

ÖKOTOXIKOLOGISCHE
UNTERSUCHUNGEN
ÜBER XENOBIOTIKAWIRKUNGEN AUF
PHYTOPLANKTON
ANHAND EINES ENTWICKELTEN
LABOR-FREILAND-TESTS

Ludwig Peichl

Diss
München
1984

**ÖKOTOXIKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER
XENOBIOTIKAWIRKUNGEN AUF PHYTOPLANKTON
ANHAND EINES ENTWICKELTEN LABOR-FREILAND-TESTS**

**Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Biologie der
Ludwig-Maximilians-Universität
München**

vorgelegt von

**Ludwig Peichl
aus Unterschleißheim**

Januar 1984

VERGLEICHENDE STUDIEN ÜBER
KLEINSTRUKTUREN UND
KLEINSTRUKTUREN

VERGLEICHENDE STUDIEN ÜBER
KLEINSTRUKTUREN UND
KLEINSTRUKTUREN
LEHRGEBIET KLEINSTRUKTUREN
MÜNCHEN

VERGLEICHENDE STUDIEN

1. Berichterstatter: Prof. Dr. O. Siebeck
2. Berichterstatter: Prof. Dr. J. Jacobs

Tag der mündlichen Prüfung: 30. Juli 1984

Die vorliegende Arbeit wurde an der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH, Institut für Ökologische Chemie, Neherberg bei München, angefertigt.

Die wissenschaftliche Betreuung lag bei Herrn Prof. Dr. O. Siebeck, Zoologisches Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Herr Prof. Dr. F. Korte, Leiter des Instituts für Ökologische Chemie, war Sondergutachter.

An dieser Stelle möchte ich allen für die wertvolle Unterstützung danken, die mir bei der Anfertigung dieser Arbeit entgegengebracht wurde.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. O. Siebeck für seine wissenschaftliche Betreuung, ständige Diskussionsbereitschaft und wertvollen Anregungen bei der Durchsicht der Arbeit und Herrn Prof. Dr. F. Korte für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes an seinem Institut und die damit verbundene finanzielle Unterstützung.

Insbesondere danke ich Herrn Dr. habil. W. Klein für die großzügige Bereitstellung aller notwendigen Arbeitsmittel und Beratung in wissenschaftlichen und technischen Fragen und Herrn Dr. J.-P. Lay für seine ständige Gesprächsbereitschaft.

Herrn Prof. Dr. D.E.W. Ernst und Herrn Dipl.-Phys. E. Schulze vom Institut für Biophysik der Universität Hannover danke ich für die Zurverfügungstellung des Chlorophyll-Fluoreszenzphotometers.

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	1
II. METHODIK	6
II.1. Grundlagen der ökotoxikologischen Bewertung	6
II.1.1. Definition der zu untersuchenden Ökosysteme und Auswahl der ökotoxikologischen Test- parameter	6
II.1.2. Berechnungsgrundlagen der Testparameter und Quantifizierung der Xenobiotikawirkungen	10
II.2. Apparatur und Methodik der Laborexperimente	13
II.2.1. Algen-Durchflußkultur	13
II.2.1.1. Aufbau und Betriebsbedingungen	13
II.2.1.2. Chemostatbetrieb	15
II.2.2. Strahlungsquellen und Strahlungsmessung	16
II.2.3. Die ökotoxikologischen Testparameter	20
II.2.3.1. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	20
II.2.3.2. Wachstumsrate	25
II.2.3.2.1. Zelldichtebestimmung	26
II.2.3.2.2. Bestimmung von aktivem Chloro- phyll a	26
II.2.3.2.3. Chlorophyll-Fluoreszenzmessung	28
II.2.3.3. pH-Messung	28
II.2.4. Fehlerquellen	29
II.2.4.1. Abiotisch bedingte Einflüsse auf den O ₂ -Gehalt	29
II.2.4.2. Konzentrationskontrolle der Test- chemikalien	32
II.3. Apparatur und Methodik der Freilandexperimente	33
II.3.1. Beschreibung des Fasanerie-Sees	33
II.3.2. Strahlungsmessung und Sichttiefenbestimmung	34
II.3.3. Temperaturmessung	34
II.3.4. Die ökotoxikologischen Testparameter	35
II.3.4.1. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	35
II.3.4.2. Wachstumsrate und pH	37
II.4. Statistische Berechnungen (Regression, Korrela- tion und t-Test) (82, 83)	38

III. AUSWAHL DER TESTCHEMIKALIEN	40
III.1. Atrazin	40
III.2. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D)	42
III.3. Pentachlorphenol (PCP)	44
III.4. p-Nitrophenol	45
III.5. Zusammenfassung der Kriterien für die Auswahl der Testsubstanzen	46
IV. ERGEBNISSE	47
IV.1. Laborexperimente	47
IV.1.1. Analyse der Testparameter in Kontrollver- suchen	47
IV.1.1.1. Zeitlicher Verlauf der O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung innerhalb der Testzeit von 48 h	47
IV.1.1.2. Mittelwerte aus den Kontrollversuchen	52
IV.1.1.2.1. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	52
IV.1.1.2.2. Wachstumsrate	53
IV.1.1.2.3. pH	55
IV.1.2. Analyse der Testsubstanzen im ökotoxiko- logischen Versuch	55
IV.1.2.1. Untersuchungen bei einheitlichen Lichtstärke von 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$	55
IV.1.2.1.1. Atrazin (0,05-1,0 ppm)	55
IV.1.2.1.1.A. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	55
IV.1.2.1.1.B. Wachstumsrate	59
IV.1.2.1.1.C. Chlorophyllgehalt der Algen- zellen	62
IV.1.2.1.1.D. pH	64
IV.1.2.1.1.E. Schlußfolgerungen	67
IV.1.2.1.2. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (0,1 - 10 ppm)	68
IV.1.2.1.2.A. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	68
IV.1.2.1.2.B. Wachstumsrate	70
IV.1.2.1.2.C. Chlorophyllgehalt der Algen- zellen	72
IV.1.2.1.2.D. pH	73
IV.1.2.1.2.E. Schlußfolgerungen	75

IV.1.2.1.3. Pentachlorphenol (0,01 - 1,0 ppm)	77
IV.1.2.1.3.A. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	77
IV.1.2.1.3.B. Wachstumsrate	80
IV.1.2.1.3.C. Chlorophyllgehalt der Algenzellen	84
IV.1.2.1.3.D. pH	86
IV.1.2.1.3.E. Schlußfolgerungen	88
IV.1.2.1.4. p-Nitrophenol (0,01 - 10 ppm)	89
IV.1.2.1.4.A. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	89
IV.1.2.1.4.B. Wachstumsrate	92
IV.1.2.1.4.C. Chlorophyllgehalt der Algenzellen	94
IV.1.2.1.4.D. pH	96
IV.1.2.1.4.E. Schlußfolgerungen	98
IV.1.2.1.5. Zusammenfassender Vergleich der Wirkungen der 4 Testsubstanzen	99
IV.1.2.2. Einfluß verschiedener Lichtstärken auf das Ausmaß der Atrazin- bzw. PCP-Wirkung	101
IV.1.2.2.1. O ₂ -Bruttoproduktion	101
IV.1.2.2.2. Wachstumsrate	105
IV.1.2.2.3. Chlorophyllgehalt der Algenzellen	121
IV.1.2.2.4. O ₂ -Bruttoproduktion pro Zelle und Aktivität	130
IV.1.2.2.5. Schlußfolgerungen	142
IV.1.2.2.6. Beeinflussung der O ₂ -Produktion durch Atrazin bei einer Lichtstärke von 10 µE/m ² sec	145
IV.2. Freilandexperimente	149
IV.2.1. Analyse der Testparameter im Kontrollversuch	149
IV.2.1.1. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	149
IV.2.1.2. Zelldichte, Artenzusammensetzung und Chlorophyllkonzentration	150
IV.2.2. Analyse der Testsubstanzen im ökotoxikologischen Versuch	152
IV.2.2.1. Atrazin (0,01 - 10 ppm)	152

IV.2.2.1.A. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	152
IV.2.2.1.B. Zelldichte und Artenzusammensetzung	156
IV.2.2.1.C. Chlorophyll	157
IV.2.2.1.D. Schlußfolgerungen	158
IV.2.2.2. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (1,0 - 50 ppm)	160
IV.2.2.2.A. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	160
IV.2.2.2.B. Zelldichte und Artenzusammensetzung	161
IV.2.2.2.C. Chlorophyll	162
IV.2.2.2.D. Schlußfolgerungen	162
IV.2.2.3. Pentachlorphenol (0,05 -1,0 ppm)	162
IV.2.2.3.A. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	162
IV.2.2.3.B. Zelldichte und Artenzusammensetzung	164
IV.2.2.3.C. Chlorophyll	164
IV.2.2.3.D. Schlußfolgerungen	164
IV.2.2.4. p-Nitrophenol (1,0 - 50 ppm)	164
IV.2.2.4.A. O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung	164
IV.2.2.4.B. Zelldichte und Artenzusammensetzung	166
IV.2.2.4.C. Chlorophyll	167
IV.2.2.4.D. Schlußfolgerungen	168
IV.2.2.5. Zusammenfassender Vergleich der Wirkungen der vier Testsubstanzen	169

V. DISKUSSION	171
V.1. Übereinstimmung der Ergebnisse mit den bekannten physiologischen Wirkungsweisen	171
V.1.1. Atrazin	171
V.1.2. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure	173
V.1.3. Pentachlorphenol	173
V.1.4. p-Nitrophenol	175
V.2. Vergleichbarkeit der Laborergebnisse mit den Freilandergebnissen	177
V.2.1. Atrazin	177
V.2.2. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure	178
V.2.3. Pentachlorphenol	178
V.2.4. p-Nitrophenol	179
V.3. Bedeutung der Ergebnisse in Bezug auf die O ₂ -Produktion und O ₂ -Zehrung in Seen	180
V.4. Kritische Betrachtung des Testsystems	184

VI. ZUSAMMENFASSUNG	189
VI.1. Methodik	189
VI.2. Ergebnisse	190
VI.2.A. Laborexperimente	190
VI.2.B. Freilandexperimente	192
VI.2.C. Bedeutung der Ergebnisse für den O ₂ -Haushalt eines Sees	194
VII. TABELLENANHANG	196
VIII. LITERATUR	205

I. EINLEITUNG

"Wenn unter den Problemen, die die limnologische Forschung ... beschäftigten, wohl keines so ausgiebig diskutiert worden ist wie das der O₂-Schichtung in unseren Seen, so findet das ... seine Begründung darin, daß man ... erkannt hat, welche zentrale Stellung der O₂-Haushalt für die Beurteilung des gesamten biologischen Geschehens in unseren Binnengewässern einnimmt (1)." Dieser Satz wurde 1934 veröffentlicht. Heute ist das Problem des O₂-Gehaltes unserer Gewässer besonders in den Vordergrund gerückt. Die Eutrophierung ist meist soweit fortgeschritten, daß sich O₂-freie Zonen in den Tiefen der Seen immer weiter nach oben ausdehnen.

Zu den als Verursacher von Eutrophierung und O₂-Schwund in Frage kommenden Nährstoffen kommt eine Vielzahl von synthetischen, in der Natur meist nie vorkommenden Verbindungen. Es werden weltweit mehr als 30.000 verschiedene Chemikalien industriell hergestellt, zu denen jährlich 1.000 - 1.500 neue hinzukommen (2). Die Weltproduktion organischer Chemikalien beträgt über 150 Mio. t (2). In der BRD wurden 1969 an Insektiziden, Herbiziden und Fungiziden zusammen 145.000 t und an Weichmachern 190.000 t verbraucht (2). Es liegt nahe anzunehmen, daß ein Teil dieser in die Umwelt gelangenden Chemikalien (Xenobiotika) ihren Beitrag zur Eutrophierung leisten. Die vorhandenen Informationen über Umweltvorkommen und Wirkungsspektren von Xenobiotika sind noch sehr gering. Die größte Anzahl von Untersuchungen über ihre Wirkungsweise wurde mit Säugetieren durchgeführt, mit dem Ziel, die erarbeiteten Daten auf den Menschen zu übertragen. Man hat jedoch auch begriffen, daß der Mensch nur im Zusammenspiel mit einer intakten Umwelt lebensfähig ist und beginnt Teile dieser Umwelt, in Form von einzelnen Organismen bis hin zu komplexen Ökosystemen, auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Xenobiotika zu untersuchen.

In (3) werden drei Kategorien ökotoxikologischer Untersuchungsmethoden unterschieden:

1. "Die infraorganismische Ebene" (Versuche z.B. an Zellkulturen, isolierten Organellen oder Organteilen).
2. "Die Ebene der Individuen" (Tests mit Exemplaren einer Art, Rasse oder eines Stammes).
3. "Die biozönotische Ebene" (Untersuchungen an ganzen Ökosystemen oder Teilen davon im Labor oder Freiland).

Die Ergebnisse aus Punkt 1 sind leicht reproduzierbar aber im allgemeinen nicht auf Freilandverhältnisse übertragbar; die Ergebnisse aus Punkt 2 sind schwer reproduzierbar und nur m.E. auf das Freiland übertragbar; die Untersuchungen im Punkt 3 können als Xenobiotikatests in einem Gewässer die Freilandwirklichkeit selber sein und sind nicht reproduzierbar (3). Untersuchungen der Kategorie 1 dienen vor allem der Aufklärung physiologisch-biochemischer Zusammenhänge innerhalb der klassischen Grundlagenforschung. Kategorie 2 und 3 dagegen haben ihr Hauptanwendungsgebiet in den noch jungen Disziplinen der Umwelttoxikologie und Ökologischen Chemie.

An der Spitze der Testorganismen zu Kategorie 2 liegen die Algen, wobei die Untersuchungen über Xenobiotikaeinflüsse auf die Wachstumsrate den Hauptanteil beanspruchen. Die Veränderungen der Zelldichte werden anhand der Zellzahlen (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10), der Chlorophyll a-Konzentration (11), der Chlorophyll-Fluoreszenz (9, 12) oder der Extinktion (13, 14, 15) bestimmt. Auswirkungen auf Photosyntheseleistung und Atmung werden durch Messung der ^{14}C -Aufnahme (10, 14, 16, 17, 18, 19) oder dem CO_2 - bzw. O_2 -Austausch mit Hilfe des WAHRBURG-Apparates (20, 21, 22) untersucht. Spezielle Eigenschaften wie z.B. die Fähigkeit zur Wiederergrünung von im Ruhestadium rotgefärbten Chlorellen (23) werden ebenfalls schon als Indikatoren herangezogen. Allen diesen Arbeiten ist gemeinsam, daß sie im Labor durchgeführt sind und, angezüchtete Algen Monokulturen (Ausnahme (11) und (19)) verwendet werden.

Einen kleinen Schritt weiter gehen Versuche, Wasserproben aus dem Freiland ins Labor zu bringen und dort Untersuchungen an der in natürlicher Zusammensetzung vorhandenen Phytoplankton-

population zu machen (11, 19). Diese als künstliches Ökosystem zu bezeichnende Anordnung kann auch durch im Labor gezogene Mischkulturen nachgeahmt werden. Die Möglichkeit, ein sich selbst erhaltendes Gleichgewicht zwischen den Arten zu erhalten, wird jedoch mit zunehmender Artenzahl immer geringer. Es ist bereits ein Erfolg, zwei Arten im Gleichgewicht zu kultivieren, um dann einen selektiven Xenobiotikaeinfluß zu untersuchen (24).

Zu Punkt 3 gehören Nahrungskettenversuche (25, 26) und der Aufbau von Modellökosystemen im Labor (27, 28, 29). Diese Systeme sind gekennzeichnet von einer, willkürlich festgelegten Zusammensetzung. Mit Sicherheit umweltrelevante Aussagen können nur durch Versuche im Freiland erarbeitet werden. So beginnt man in jüngster Zeit, Versuche an abgegrenzten, künstlich angelegten, aber längere Zeit sich selbst überlassenen Gewässern zu machen (30). Daraus resultierende Ergebnisse über Xenobiotikawirkungen auf Flora, Fauna und physikalisch-chemische Parameter sind aber nicht reproduzierbar und ihre Übertragbarkeit auf andere Gewässer ist stark eingeschränkt.

Es stehen somit derzeit zur Wahl:

1. Laborversuche mit Organismen einer Spezies oder künstliche Systeme die mit größtenteils nur im Labor durchführbaren Versuchsmethoden gekoppelt sind (z.B. WAHRBURG-Apparatur oder unnatürlich hohe Algendichten, um Kurzzeitergebnisse zu sichern); sie sind hinsichtlich ihrer Methodik und Aussage nicht auf das Freiland übertragbar.
2. Freilandversuche, deren Aussagen weitgehend auf das untersuchte System beschränkt bleiben müssen und immer einen längeren Versuchszeitraum in Anspruch nehmen.

In Anbetracht der bisher aufgezeigten Methoden und deren Problematik versuche ich in meiner Arbeit, eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse anzustreben, die mit den ökotoxikologischen Untersuchungsmethoden der 2. und 3. Kategorie (3) zu erzielen sind.

Die angestrebte Testmethode soll standardisierbar sein und folgende weitere Forderungen erfüllen:

1. Anwendbarkeit sowohl unter Labor- als auch Freilandbedingungen.
2. Sicherung reproduzierbarer Ergebnisse in Kurzzeitversuchen.

Hinsichtlich der Durchführbarkeit soll von vornherein eine kostengünstige (Personal! Technischer Aufwand!) Lösung erarbeitet werden.

Als Testgrößen wählte ich die O_2 -Produktion als Maß für die Photosyntheseleistung und den O_2 -Verbrauch als Maß für die Atmung. Beide Größen sind grundlegende physiologische Vorgänge. Xenobiotikawirkungen sollten daher besonders frühzeitig erkennbar werden, auf jeden Fall noch bevor Veränderungen von Wachstumsgrößen, wie z.B. Erhöhung der Zelldichte, nachweisbar sind. So schreibt UHLMANN (31): "..., daß die Gesamtleistung eines Ökosystems (z.B. Summe aller Atmungs- oder aller photosynthetischen Aktivitäten) viel stärker homöostatisiert ist als die Individuenzahlen der einzelnen Arten (vgl. FEDOROV und SOKOLOVA 1972). Deshalb sind die Leistungsgrößen auch viel besser geeignet, ein Ökosystem als Ganzes zu kennzeichnen. Eine durch verstärkte Belastung mit organischen Abwässern oder mit Pflanzennährstoffen hervorgerufene Änderung des biologischen Gleichgewichtes läßt sich meistens eindeutig durch die Änderung der Leistung kennzeichnen." Was hier auf organische Abwässer bezogen ist, ist sicher auch für Xenobiotika von Gültigkeit.

Da ein Gewässer kein physikalisch homogenes System darstellt, sondern sein Phytoplankton allein schon auf Grund seiner Tiefenausdehnung unterschiedlichen Lichtverhältnissen ausgesetzt ist, soll bei dieser, z.T. die Photosynthese betreffenden Untersuchung, auch der Einfluß unterschiedlicher Lichtstärken auf Xenobiotikawirkungen untersucht werden.

Für die Messung von O_2 -Produktion und -Zehrung im Freiland bietet sich die in der Limnologie bewährte " O_2 -Methode" (32)

an. Verwendet man Hell- und Dunkel-Flaschen (32) hat sie gegenüber der ^{14}C -Methode den Vorteil, daß sich die O_2 -Produktion und die O_2 -Zehrung getrennt bewerten lassen. Bei Anwendung der " O_2 -Methode" in einem eutrophen See mit nicht zu geringer Algendichte führt eine Expositionsdauer von 6 - 8 Stunden zu ausreichend gesicherten Ergebnissen. Am darauf folgenden Tag können die Ergebnisse bereits bestimmt und ausgewertet sein. Da das praktisch unveränderte Seewasser während der Testdauer in WINKLER-Flaschen (32) abgefüllt ist, können in diese die Testchemikalien in gewünschter Konzentration zugegeben werden, ohne die Umwelt damit zu belasten. Durch die Schaffung naturähnlicher Bedingungen im Labor müßte diese Methode auch dort durchführbar sein. Um die Laborversuche nahtlos aneinanderreihen zu können, ist es notwendig, ständig Algenkultur in flüssigem Nährmedium von gleichbleibender Zelldichte und im vergleichbaren physiologischen Zustand zur Verfügung zu haben. Damit Freiland- und Laborergebnisse besser vergleichbar sind, ist es erstrebenswert, die Labor-Zelldichte den Algendichteverhältnissen des im Freiland zu untersuchenden Sees anzugleichen. Die Bedingungen "vergleichbarer physiologischer Zustand" und "bestmögliche Produktionsleistung" können nur von Algen erfüllt werden, die sich in der log-Wachstumsphase befinden. Eine ständige Verfügbarkeit von Algen unter Einhaltung der beschriebenen Voraussetzungen ist nur mit Hilfe einer Algen-Durchflußkultur (33, 34, 35), einem Chemostaten, realisierbar.

Die mittels der " O_2 -Methode" bestimmte O_2 -Produktion bzw. O_2 -Zehrung sind Summenparameter. Photosyntheseleistung, Atmung und Wachstumsrate sind in ihnen enthalten. Beim Einsatz von Xenobiotika darf nicht vergessen werden, daß es Verbindungen gibt, welche die Photosynthese bzw. Atmung nicht unmittelbar beeinflussen, sondern z.B. allgemein wachstumshemmend oder artspezifisch zellschädigend wirken, was sich ebenfalls auf die absoluten O_2 -Produktions- und O_2 -Zehrungsmengen pro Volumen- und Zeiteinheit auswirkt. Um derartige Effekte, so weit in diesem Rahmen möglich, nicht zu übersehen, sollen auch Parameter wie Zellteilungsrate, Chlorophyllkonzentration, Chlorophyll-Fluoreszenz und pH-Veränderungen bestimmt werden.

II. METHODIK

II.1. Grundlagen der ökotoxikologischen Bewertung

II.1.1. Definition der zu untersuchenden Ökosysteme und Auswahl der ökotoxikologischen Testparameter

Der Begriff "ökotoxikologische Wirkung" wird in der Literatur uneinheitlich verwendet. Grundsätzlich spricht man von einer "toxischen Wirkung", wenn Organismen durch Substanzen oder physikalische Einflüsse (z.B. Strahlen) geschädigt oder getötet werden. Untersucht man toxische Wirkungen nicht auf Einzelorganismen, sondern auf Ökosysteme oder Teile davon, so müssen diese klar definiert werden.

Das Testobjekt meiner Laborversuche war eine Monokultur von *Chlorella fusca* Sh. et Kr. in anorganischer Nährlösung. Da sie im Chemostat in einer definierten Wachstumsphase gehalten wurde, läßt sich dieses Testobjekt als "künstliches Ökosystem" betrachten. Bei den Freilandversuchen wurde dem Pelagial eines Sees (Fasanerie-See, vgl. Kap. II.3.1.) eine Wasserprobe entnommen und für die Dauer des Tests in Flaschen im Pelagial exponiert. Hier lag eine Mischprobe vor, die aus Phytoplankton, Bakterien und einigen Zooplanktern zusammengesetzt war, und zwar den natürlichen Verhältnissen entsprechend. Da dieses System für die Dauer der Expositionszeit am Austausch mit seiner Umgebung gehindert wurde, läßt es sich ebenfalls als "künstliches Ökosystem" bewerten. Wegen seiner Zusammensetzung erleichtert es jedoch die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die ungestörte Freilandsituation.

Die von mir gewählten Testgrößen sind:

1. O₂-Produktion (Photosynthese)
2. O₂-Zehrung (Atmung)
3. Verschiedene Parameter zur Beschreibung des Wachstums:
Änderungen der Zelldichte, der Chlorophyll a-Konzentration und der Chlorophyll-Fluoreszenz
4. pH, als eine Größe, die unter dem Einfluß von Photosynthese und Atmung variiert.

Durch die Wahl von Dunkel-Flaschen neben den lichtexponierten Hell-Flaschen lassen sich durch die "O₂-Methode" O₂-Produktion und O₂-Zehrung getrennt bewerten. In der limnologischen Forschung war es bisher üblich, aus dem O₂-Zuwachs in den Hell-Flaschen (= O₂-Nettoproduktion) und dem O₂-Abbau in den Dunkel-Flaschen (= O₂-Zehrung) durch Addition die O₂-Bruttoproduktion als ein direktes Maß der Photosyntheseleistung zu bestimmen (36, 37, 38, 39, 40). Voraussetzung für die Gültigkeit dieser Berechnung ist die Annahme, daß die Rate der Dunkelatmung im Dunkeln und im Licht gleich groß ist (32, 41). Pflanzenphysiologische Untersuchungen haben jedoch, insbesondere in jüngerer Zeit, gezeigt, daß wegen verschiedener Stoffwechselmechanismen, wie z.B. der "Photorespiration" oder möglicher Hemmung der Mitochondrien-Atmung in Folge ADP-Konkurrenz im Licht durch die Photosynthese (42), die derart berechnete O₂-Bruttoproduktion nicht als die absolute Bruttophotosyntheserate angesehen werden darf. Die berechnete O₂-Bruttoproduktion ist deshalb exakter als "apparente Bruttophotosyntheserate" zu bezeichnen (41). Im Bewußtsein dieser Einschränkung und der Tatsache, daß es sich nicht um eine unabhängig gemessene Größe, sondern einen mathematischen Wert aus zwei unabhängigen Größen handelt, scheint es mir auch heute noch sinnvoll, diese Berechnungsweise anzuwenden und sie zur Abschätzung von Xenobiotikawirkungen auf die Photosyntheseleistung im Rahmen des erstellten Testsystems heranzuziehen. Nicht zuletzt soll damit eine Vergleichsmöglichkeit der gewonnenen Kenntnisse mit bisherigen Ergebnissen (36, 37, 38, 39, 40) der limnologischen Grundlagenforschung ermöglicht werden.

Alle genannten Größen sollen unter dem Einfluß der ausgewählten Xenobiotika getestet werden, einerseits im Laborversuch (Monokultur von *Ch. fusca*) und andererseits im Freilandversuch (natürliche Mischkultur aus dem Pelagial eines Sees unter den natürlich gegebenen Außenbedingungen).

Xenobiotika können auf Grund verschiedener physiologischer Wirkungsmechanismen Einfluß auf die Meßparameter nehmen. So ist es vorstellbar, daß durch Hemmung der Photosynthese die

O₂-Produktion pro Zeiteinheit reduziert wird, die Atmung, und damit die O₂-Zehrung im Versuchszeitraum unbeeinflusst bleibt und umgekehrt. Außerdem könnten Kompensationsmechanismen z.B. dazu führen, daß bei einer Beschleunigung der Atmung durch atmungsentkoppelnde Chemikalienwirkung die Photosyntheserate erhöht wird (Konkurrenz um ADP).

Durch Beeinflussung auch anderer Stoffwechselprozesse kann das Zellwachstum und die Zellteilungsrate beeinflusst werden. Eine Hemmung der Zellteilungsrate führt dann zu einer Reduzierung der O₂-Produktion und O₂-Zehrung pro Zeit- und Volumeneinheit. Verschiebungen von O₂-Produktion und O₂-Zehrung pro Zeit- und Volumeneinheit müssen also nicht nur auf direkte Beeinflussung der Photosynthese- bzw. Atmungsprozesse zurückzuführen sein, sondern können ihre Ursache auch in Veränderungen der Zellteilungsraten oder beliebiger Kombinationsvarianten dieser drei Prozesse haben.

Um Hinweise auf diesbezügliche Wirkungsweisen zu bekommen, sollen die Wachstumsraten bestimmt werden. Die unter 3. genannten Bestimmungsmethoden sind jedoch nicht gleichwertig. Stoffwechselphysiologische Einflüsse der Testchemikalien können zur Hemmung oder Beschleunigung der Wachstumsraten führen, was sich direkt durch Bestimmung der Zellteilungsrate ermitteln läßt. Im Zusammenhang dazu steht eine Veränderung der Konzentration an aktivem Chlorophyll a und des relativen Chlorophyll-Fluoreszenzwertes (jeweils pro Volumeneinheit). Die direkte Verknüpfung dieser drei Parameter ist jedoch nicht immer gegeben. Es ist möglich, daß sich der Chlorophyllgehalt der Algenzellen durch chemikalien- oder lichtbedingte Beeinflussung verändert, wodurch es zu unterschiedlichen Aussagen über Veränderungen der Wachstumsraten durch Bestimmung der Zellteilungsrate einerseits und der Chlorophyllkonzentration andererseits kommen kann.

Aber auch die unterschiedliche Art der Chlorophyllbestimmung kann zu Aussageverschiebungen über die Chemikalienwirkung führen. Die Chlorophyll-Fluoreszenzmessung, basierend auf der

Fluoreszenz aus dem Photosystem II, kann Verschiebungen in der Chlorophyllkonzentration angeben, die von den Ergebnissen der Bestimmung des aktiven Chlorophylls a aus beiden Photosystemen möglicherweise abweichen.

Um unterschiedliche Ergebnisse bei der Bestimmung der Wachstumsraten durch die drei genannten Parameter erklären zu können, ist es deshalb notwendig, Veränderungen der Chlorophyllkonzentrationen nicht nur volumenbezogen, sondern auch zellbezogen zu betrachten, d.h. die Verschiebungen des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a pro Zelle und der Chlorophyll-Fluoreszenzeinheiten pro Zelle zu bestimmen.

Die pH-Messung dient zum einen der Beschreibung der Lebensbedingungen der Testorganismen, zum anderen aber auch einer indirekten Bestimmung der Photosynthese- und Atmungsleistung in Kombination mit der Wachstumsrate. Tritt eine Veränderung dieser Größen auf, so verändert sich auch der CO_2 -Gehalt des Algenmediums in bekannter Weise und damit der pH-Wert.

Informationen über die Wirkung der Testchemikalien auf die Photosynthese soll die Berechnung der O_2 -Produktion pro Zelle und Zeiteinheit liefern. Berechnet man bei Versuchsreihen mit unterschiedlichen Lichtstärken und gleichbleibender Chemikalienkonzentration diese " O_2 -Bruttoproduktion pro Zelle und Zeiteinheit" pro Lichtstärkeneinheit, so erhält man eine Größe die mit dem Begriff "Aktivität" beschrieben werden kann. Diese Aktivität (A) dient als Maß für die Photosyntheseleistung pro Lichtstärkeeinheit und ist wiederum von der eingestrahnten Lichtmenge abhängig. Wirkt eine Chemikalie direkt auf das Photosystem, könnte es zu einer unterschiedlichen Veränderung von A durch verschiedene Lichtstärken kommen.

Nach der Auswahl der ökotoxikologischen Testparameter stellt sich die Frage nach ihren Berechnungsgrundlagen und der Quantifizierung der Xenobiotikawirkungen auf diese Parameter.

II.1.2. Berechnungsgrundlagen der Testparameter und Quantifizierung der Xenobiotikawirkungen

Berechnungsgrundlagen der Testparameter:

1. Die Werte der O₂-Produktion und O₂-Zehrung werden in mg O₂/l, bezogen auf die Testdauer, angegeben.
2. Die Werte der Parameter zur Bestimmung der Wachstumsraten werden angegeben in:

Zelldichte: Zellen/ml (= N/ml)
Aktives Chlorophyll a: µg/l
Chlorophyll-Fluoreszenz: Relative Maßeinheiten zwischen
 0 und 1000.

3. Die Wachstumsrate r (h^{-1}) wird berechnet nach:

$$((\ln N_t - \ln N_0) \times 100) / t$$

N_0 = Individuenzahl/ml bzw. Chlorophyll a-Konz. (µg/l)
bzw. Chlorophyll-Fluoreszenzeinheiten bei Versuchs-
beginn.

N_t = Individuenzahl/ml bzw. Chlorophyll a-Konz. (µg/l)
bzw. Chlorophyll-Fluoreszenzeinheiten bei Versuchs-
ende.

t = Versuchsdauer in Stunden.

4. Veränderungen des Chlorophyllgehaltes der Zelle in den Kontrollen bzw. xenobiotikabelasteten Proben (Kap. IV.1.2.2.) werden in relativen Einheiten angegeben:

$$(\text{Chl}_t / N_t - \text{Chl}_0 / N_0) \times 100 / (\text{Chl}_0 / N_0)$$

Chl_0 = Konzentration an aktivem Chlorophyll a bzw. Chloro-
phyll-Fluoreszenzeinheiten bei Versuchsbeginn.

Chl_t = Konzentration an aktivem Chlorophyll a bzw. Chloro-
phyll-Fluoreszenzeinheiten bei Versuchsende.

5. Relative Veränderungen der Chlorophyllkonzentration (pro Volumen) in den Kontrollen bzw. den xenobiotikabelasteten Proben (Freilandexperimente, Kap. IV.2.):

$$\text{Chl}_{tR}/\text{Chl}_0 \text{ bzw. } \text{Chl}_{tS}/\text{Chl}_0$$

R = Kontrolle

S = mit Testchemikalie

$$6. \text{ O}_2\text{-Bruttoproduktion pro Zelle } \left(\frac{\text{mgO}_2}{1 \times N \times 48 \text{ h}} \right):$$

$$\frac{\text{O}_2\text{-Bruttoproduktion}}{(N_0 - N_t)/2}$$

N_0 = Zelldichte bei Testbeginn

N_t = Zelldichte bei Testende nach 48 h

$$7. \text{ Aktivität (A)} \frac{\text{mg O}_2 \times \text{m}^2 \times \text{sec}}{N \times \mu\text{E} \times 48 \text{ h}} :$$

$$A = \text{O}_2\text{-Bruttoproduktion} / ((N_0 - N_t)/2 \times \text{Lichtstärke}).$$

Quantifizierung der Xenobiotikawirkungen:

Die Bewertung der Xenobiotikawirkungen erfolgt mit wenigen Ausnahmen (vgl. S. 13) an Hand der relativen Unterschiede zwischen Meßergebnis bei Xenobiotikazugabe und Meßergebnis der Kontrolle.

1. O₂-Produktion und O₂-Zehrung:

$$(\text{O}_{2S} - \text{O}_{2R}) \times 100/\text{O}_{2R}$$

O_{2R} = O₂-Produktion bzw. O₂-Zehrung ohne Testchemikalie (Kontrolle)

O_{2S} = O₂-Produktion bzw. O₂-Zehrung mit Testchemikalie

2. Wachstumsrate:

$$((r_S - r_R) \times 100)/r_R$$

r_R = Wachstumsrate ohne Testchemikalien (Kontrolle)

r_S = Wachstumsrate mit Testchemikalie

3. Chlorophyllgehalt der Zellen (Laborversuche bei einheitlicher Lichtstärke von $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, Kap. IV.1.2.1.):

$$(\text{Chl}_{t_S}/\text{N}_{t_S} - \text{Chl}_{t_R}/\text{N}_{t_R}) \times 100/(\text{Chl}_{t_R}/\text{N}_{t_R})$$

Chl_{t_R} = Aktives Chlorophyll a bzw. Chlorophyll-Fluoreszenzeinheiten bei Testende ohne Testchemikalie (Kontrolle)

Chl_{t_S} = Aktives Chlorophyll a bzw. Chlorophyll-Fluoreszenzeinheiten bei Testende mit Testchemikalie

N_{t_R} = Zelldichte (Zellen/l) bei Testende ohne Testchemikalie (Kontrolle)

N_{t_S} = Zelldichte (Zellen/l) bei Testende mit Testchemikalie

4. Relativer Unterschied (%) zwischen den relativen Veränderungen der Chlorophyllkonzentrationen (pro Volumen) durch Xenobiotikaeinwirkung (Freilandexperimente, Kap. IV.2.):

$$(\text{Chl}_{t_S}/\text{Chl}_0 - \text{Chl}_{t_R}/\text{Chl}_0) \times 100/(\text{Chl}_{t_R}/\text{Chl}_0)$$

Ausnahmen:

Bei den Laborversuchen über den Einfluß verschiedener Lichtstärken auf die Xenobiotikawirkungen (Kap. IV.1.2.2.) erschien es sinnvoll, auch den Einfluß der verschiedenen Lichtstärken auf die Kontrollwerte darzustellen. Lichtstärkebedingte Veränderungen werden hier unter anderem aus den Unterschieden in den Funktionsverläufen von Kontrollen und Proben mit Testchemikalien abgeleitet.

Dieses Verfahren wird zum Teil ebenfalls bei der Untersuchung über die Chlorophyllkonzentration bei den Freilandversuchen (Kap. IV.2.2.) angewendet.

Der Einfluß auf die pH-Veränderungen während der Versuchszeit wurde als absolute Differenz der pH-Veränderungen berechnet:

$$\Delta(\Delta \text{pH}) = (\text{pH}_{t_S} - \text{pH}_{0_S}) - (\text{pH}_{t_R} - \text{pH}_{0_R})$$

0_R = Kontrollwerte bei Versuchsbeginn

t_R = Kontrollwerte bei Versuchsende

O_S = Werte durch Chemikalieneinfluß bei Versuchsbeginn

t_S = Werte durch Chemikalieneinfluß bei Versuchsende

II.2. Apparatur und Methodik der Laborexperimente

II.2.1. Algen-Durchflußkultur

II.2.1.1. Aufbau und Betriebsbedingungen

Um ein ständiges Vorhandensein von ausreichendem Algenmaterial in möglichst gleichbleibendem physiologischen Zustand zu erreichen, wurde eine Durchflußkultur nach dem Prinzip eines Chemostaten aufgebaut (Abb. 1). Es handelt sich dabei um eine

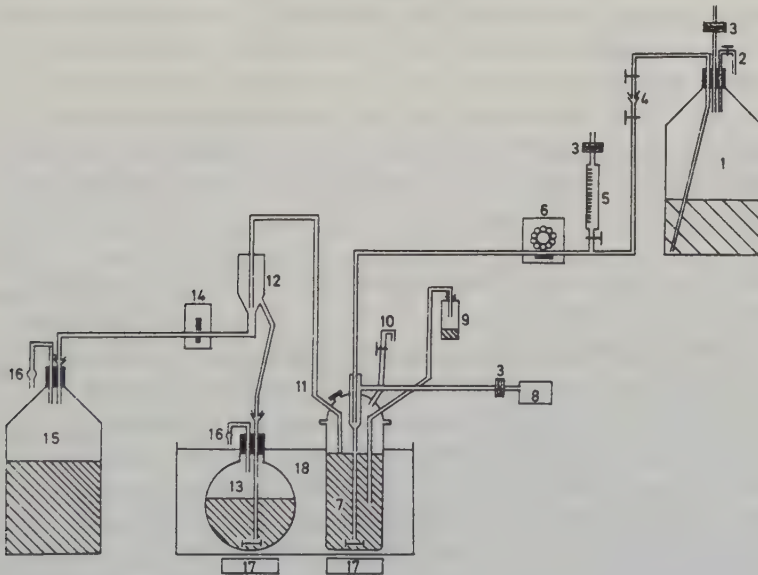


Abb.1. Algen-Durchflußkultur (Chemostat)

- | | |
|---|---|
| 1: Nährlösungs-Vorratsflasche (10 l) | 10: Autoklavier-Be- und Entlüftung |
| 2: Autoklavier-Be- und Entlüftung | 11: Algenmediumüberlauf |
| 3: 0,45 μ Sterilfilter (Teflon) | 12: Verteilergefäß |
| 4: Schliffkupplung | 13: Auffangkolben (2,2 l) für Algenmedium zum Testzweck |
| 5: Graduiertes Gefäß zur Durchflußbestimmung | 14: Magnetventil (Steuerung von Verteilergefäß (12) über Zeitschaltuhr) |
| 6: Schlauchpumpe | 15: Abfüll-Falsche (10 l) |
| 7: Reaktorgefäß (3 l) | 16: Trockenröhrchen mit Glasfaserwatte |
| 8: Aquarienpumpe | 17: Magnetrührer |
| 9: Abziehbares Gefäß mit Äthanol zur sterilen Algenentnahme | 18: Wasserbecken zur Konstanthaltung der Temperatur |

etwas veränderte Anordnung nach H. MÜLLER (33). Die Abmessungen sind auf Grund folgender Überlegungen gewählt: 1. Um das Gleichgewicht der Algenkultur nicht zu beeinflussen, darf ausschließlich der normale Algenabfluß für die Tests verwendet werden. 2. Als Nährlösungs-Vorratsflaschen kommen aus Gründen der Handhabung max. 10 l-Flaschen in Frage. 3. Die max. Wachstumsrate von *Ch. fusca* mit dem noch zu beschreibenden Nährmedium beträgt nach eigenen Versuchen bei $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ ($E = \text{Einstein} = "1 \text{ Mol}" \text{ Photonen, s. Kap. II.2.2.}$), ermittelt durch Auszählung der Zellzahl, bei einer wünschenswerten Zellkonzentration von $10^4 - 10^5/\text{ml}$: $\mu_{\text{max}} = 0,0359 \text{ h}^{-1}$. Nach den Formeln $D = F/V$ und $D \leq \mu$ folgt: $F_{\text{max}} = \mu_{\text{max}} \cdot V$ (34, 35) ($D = \text{Verdünnungsrate}$, $F_{\text{max}} = \text{maximale Flußrate}$, $\mu_{\text{max}} = \text{maximale Wachstumsrate}$, $V = \text{Reaktorvolumen}$), d.h. es beträgt die maximal mögliche Durchflußrate bei einem 3 l fassenden Reaktorgefäß $F_{\text{max}} = 107,7 \text{ ml/h}$. Nimmt man an, bei etwa $F_{\text{max}}/2$ eine noch relativ gering konzentrierte, aber stabile Algenkultur zu erreichen, bedeutet dies bei $F = 54 \text{ ml/h}$ einen Nährlösungsdurchfluß von 10 l in 7 - 8 Tagen.

Die Nährlösung wurde in ihrer Zusammensetzung etwas verändert übernommen von SCHIFF/LEVINTHAL (43). Um eine umweltrelevante Algenkonzentration bei freilandähnlicher Nährstoffkonzentration zu erhalten wurden die Konzentrationen jedoch stark verringert (Tab. 1, s. Tabellenanhang). Versuche zeigten, daß $\text{PO}_4\text{-P}$ der für die Durchflußkultur notwendige Minimumfaktor ist. Die Kultur wurde mittels einer Aquarienpumpe intensiv mit steriler Luft durchströmt. Auf CO_2 -Zugabe wurde aus zweierlei Gründen verzichtet: 1. Der sehr hohe Luftdurchsatz zur Erhöhung der Turbulenz bringt einen für die praktische Durchführbarkeit zu hohen Verbrauch an $\text{O}_2 + \text{CO}_2$ -Flaschen mit sich. 2. Den Algen kann während der eigentlichen Tests in den WINKLER-Flaschen ebenfalls keine CO_2 -Anreicherung zugute kommen, was zu Adaptationsproblemen für die Algen beim Übergang Chemo-statbedingungen zu Testbedingungen führen könnte.

Als Lichtquelle dienten 15 W "True-lite"-Röhren, welche eine tageslichtähnliche Spektralzusammensetzung haben (vgl. Kap. II.2.2.). Die Entfernung der Röhren vom Reaktorgefäß ist so ausgewählt worden, daß die Lichtstärke in der Mitte des mit Algen Nährlösung entsprechender Zelldichte gefüllten Gefäßes $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ betrug. Die Auswahl dieser Lichtstärke basierte auf den Ergebnissen früher durchgeführter Freilandversuche im Fasanerie-See (44) (vgl. Kap. II.2.2.).

Für den Aufbau der Algendurchflußkultur wie auch die Testdurchführung stand ein klimatisierter Raum zur Verfügung, wodurch eine Temperaturkonstanz von $18 - 20^\circ\text{C}$ erreicht werden konnte. Er wurde vollkommen abgedunkelt, um Fremdlicht zu vermeiden.

II.2.1.2. Chemostatbetrieb

Während der Laborversuchsperiode von ca. 18 Monaten mußte der Chemostat mehrmals neu angesetzt werden. Mängel, die sich beim ersten Ansatz herausstellten, konnten durch geringfügige Ansatz- und Durchführungsvariationen im zweiten Ansatz weitgehend beseitigt werden.

Das beim ersten Ansatz mit 3 l Nährlösung gefüllte Reaktorgefäß des Chemostaten wurde mit einer dichten Algensuspension aus einer Vorkultur angeimpft, so daß seine Ausgangskonzentration ca. $0,3 - 0,5 \times 10^5$ Zellen/ml betrug. Es dauerte bei einer lag-Phase von etwa 3 Tagen ca. 5 Tage bis, ohne Zu- und Abfluß von Nährlösung, eine Dichte von 10^5 Zellen/ml erreicht war. Bei einer anschließend eingestellten Durchflußgeschwindigkeit von 54 ml/h ($s = 1,3$) pendelte sich die Algenkonzentration bei durchschnittlich $9,5 \times 10^4$ Zellen/ml ($s = 1,3 \times 10^4$) ein. Sie blieb über eine Dauer von 3 Monaten konstant. Die Wand des Reaktorgefäßes war dann so stark mit Algenbewuchs bedeckt, daß durch Lichtmangel die Zelldichte der Kultur nicht mehr konstant gehalten werden konnte.

Beim zweiten Ansatz wurde das Reaktorgefäß nur mit 2,5 l Nährlösung gefüllt, um den Algenaufwuchs an der Gefäßwand auf Wasserspiegelhöhe durch erhöhte Wasserbewegung zu verringern. Ein nun etwas niedrigerer Durchfluß von 50 ml/h ($s = 0,9$) führte zu einer Stabilisierung der Zelldichte bei ca. 10^5 Zellen/ml. Ca. 10 Wochen konnte die Zellzahl mit Schwankungen von $8 - 11 \times 10^4$ Zellen/ml konstant gehalten werden, bis der Algenwandaufwuchs wiederum das Gleichgewicht zerstörte.

Bei drei weiteren Chemostatansätzen konnte die Algendichte nur 4 - 8 Wochen annähernd stabil gehalten werden. Sie unterlag auch in diesem Zeitraum starken Schwankungen, hervorgerufen durch verschiedene Wasserqualitäten auf Grund technischer Störungen in der zentralen Wasseraufbereitungsanlage. Die starken Schwankungen von $4 - 20 \times 10^4$ Zellen/ml wurden mit Durchflußänderungen immer wieder auszugleichen versucht. Leider mußten auch diese Kulturen zu Tests herangezogen werden, da sonst der zwingende Zeitplan nicht hätte eingehalten werden können. Bei der Berechnung der durchschnittlichen Produktions- und Wachstumswerte der Kontrollversuche (vgl. Kap. IV.1.1.2.) wurden Versuche unter diesen Chemostatbedingungen als "Tests bei instabilem Chemostatbetrieb" berücksichtigt.

Befand sich der Chemostat im Gleichgewicht, stellte sich pH 6,5 im Algenmedium ein.

II.2.2. Strahlungsquellen und Strahlungsmessung

In dem Bestreben natürliches Sonnenlicht nachzuahmen, wurden als Lichtquellen für die Chemostatbeleuchtung und die Tests "True-lite"-Röhren ausgewählt. Diese Röhren geben laut Herstellerangaben ein dem Sonnenlicht in seiner spektralen Zusammensetzung sehr ähnliches Licht ab (Abb. 2a, 2b). Für Versuche, in welchen ein Einfluß unterschiedlicher Lichtstärken auf die Xenobiotikawirkungen untersucht werden sollte,

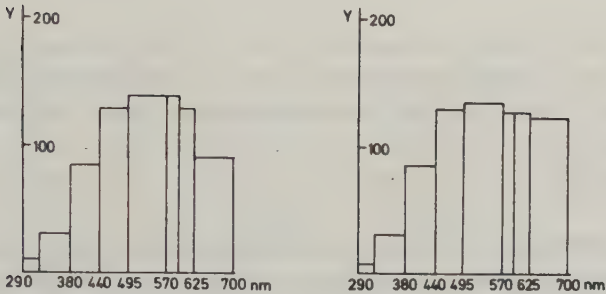


Abb.2. Vergleich der spektralen Zusammensetzung (45) von:

- a) "True-lite"-Röhren (Farbindex (CRI) 91)
- b) Natürliches Tageslicht (D-5500°K Farbindex (CRI) 100)

y = Durchschnitt Mikrowatt per 10 nm per Lumen.

reichten diese Röhren in ihrer Leistung nicht aus. Um höhere Lichtstärken zu erreichen, mußten zwei nebeneinander gestellte Halogen-Metalldampflampen vom Typ Osram HQL 400 W (Abb. 3) und Osram HQI-R 250 W (Abb. 4) benutzt werden.

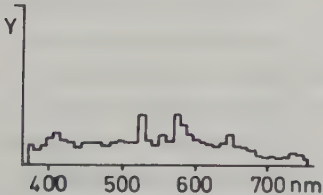


Abb.3. Spektrale Strahlungsverteilung der Lampe "Osram HQI-R 250 W" (46):
Bildhöhe y = 400 mW/1000 lm x 10 nm.

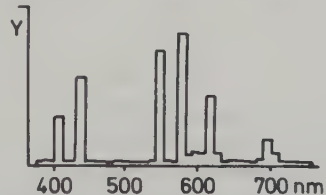


Abb.4. Spektrale Strahlungsverteilung der Lampe "Osram HQL 400 W" (46):
Bildhöhe y = 400 mW/1000 lm x 10 nm.

Da für die Photosynthese allein die Anzahl der Quanten bestimmter Wellenlängen entscheidend ist (47), wurde zur Lichtmessung das Quantenphotometer "LI-185 A Quantum/Radiometer/Photometer" mit dem "LI-192 S unter Wasser Quantum Sensor" der Firma "LI-COR" benutzt. Ein Bandpass-Interferenz-Filter ist in Kombination mit farbigen Glasfiltern in einem cosinus-korrigierten Kopf montiert (48). Der relative Meßfehler ist unter Bedingungen natürlicher Strahlung mit weniger als $\pm 5 \%$ angegeben (49). Dieses Gerät mißt die photosynthetisch aktive Strahlung im Wellenlängenbereich von 400 - 700 nm (= PAR, Pho-

tosynthetically Active Radiation (50)) in der Einheit "Mikro-einstein pro m^2sec ". Ein Einstein = $N_A \times h \times \nu$ (N_A = Avogadro'sche Zahl) (51). Der Wellenlängenbereich 400 - 700 nm deckt den für die Photosynthese relevanten Strahlungsbereich im wesentlichen ab.

Was die Lichtstärke für die Algendurchflußkultur und die O_2 -Produktionstests mit verschiedenen Xenobiotika unterschiedlicher Konzentration bei gleichbleibender Lichtstärke betrifft, wurden zur Größenorientierung Ergebnisse früher durchgeführter Freilandmessungen (44) herangezogen. Abb. 5 zeigt die O_2 -Bruttoproduktionsaktivität "A" ($\mu\text{g O}_2 \cdot \text{m}^2 \cdot \text{sec} \cdot \mu\text{g Chl a}^{-1} \cdot \mu\text{E}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)

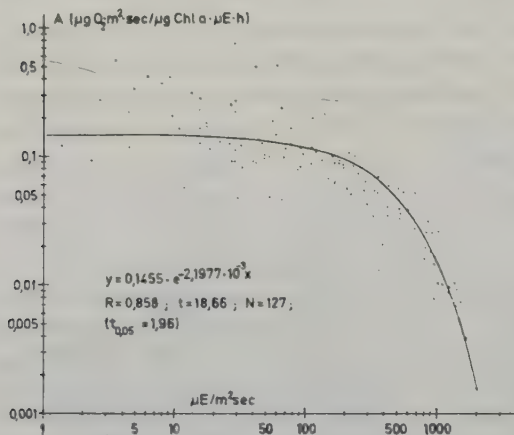


Abb.5. O_2 -Bruttoproduktionsaktivität "A" des Fasanerie-See-Phytoplanktons, bezogen auf aktives Chlorophyll a, in Abhängigkeit von der Lichtstärke (44).

des Seephytoplanktons in Abhängigkeit von der Lichtstärke. In Tiefenprofilmessungen von 0 - 7 m wurde ebenfalls die Hell-Dunkel-Flaschen-Methode angewendet. Dieser Kurvenverlauf beschreibt mit zunehmender Lichtstärke eine langsam abnehmende Aktivität von 0,15 A bei $1 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ über 0,10 A bei $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ und 0,05 A bei $500 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$.

Grundsätzlich sind sehr niedrige Lichtstärken wegen der geringen O_2 -Produktion und der damit beeinträchtigten Messgenauigkeit nicht wünschenswert. Wie Abb. 6 (44) zeigt, nimmt unter $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ die absolute O_2 -Bruttoproduktion pro Chlorophyll a stark ab, weshalb eine Lichtstärke von $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ geeignet schien (die in der ursprünglichen Arbeit (44) in Abb. 5 und 6 benutzte Einheit W/m^2 ist mit der Näherungskonstante $1 \text{ W}/\text{m}^2 = 4,5 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ umgerechnet. Dieser Wert wurde ermittelt unter

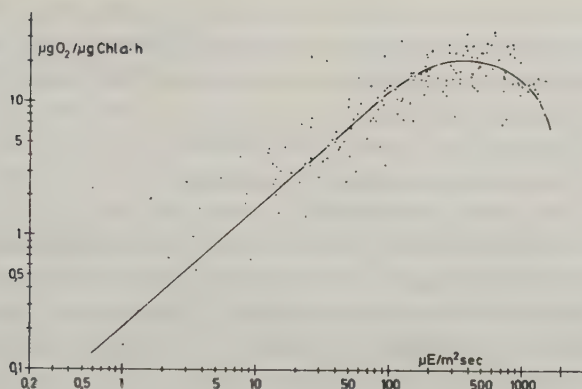


Abb. 6. Absolute O₂-Bruttoproduktion pro Einheit aktives Chlorophyll a in Abhängigkeit von der Lichtstärke (44).

Berücksichtigung der damals gemessenen relativen Transmission verschiedener Wellenlängen in den Seetiefen und gleicht den Werten von McCREE (52)). Eine Bestätigung für die Wahl von $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ ist in verschiedenen Arbeiten mit *Ch. fusca* (53, 54, 55, 56) und *Ch. ellipsoidea* (57) zu finden (Näherungsfaktor $1 \text{ Klux} = 19,53 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ (58)).

Für Versuche mit unterschiedlichen Lichtstärken wurden für den Lichtstärkebereich von $0,2 - 150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ die "True-lite"-Röhren (Abb. 2) und von $150 - \text{ca. } 900 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ die beiden Halogen-Metalldampf lampen (Abb. 3 und 4) eingesetzt. Um auf evtl. Unterschiede in den Ergebnissen auf Grund der verschiedenen Spektralanteile der Lichtquellen aufmerksam zu werden, wurden Parallelversuche dieser Testreihe bei $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ teils mit der einen, teils mit der anderen Lichtquelle durchgeführt. Es waren aber keine Unterschiede feststellbar. Abstufungen der Lichtstärke wurden durch Variation des Abstandes zwischen Lichtquelle und WINKLER-Flaschen (vgl. Kap. II.2.3.1.) erreicht.

Um eine Erwärmung der WINKLER-Flaschen bei Verwendung der Halogen-Metalldampf lampen in geringem Abstand zu vermeiden, wurden zwei ca. 3 cm voneinander entfernte Glasscheiben

vor den Lampen angebracht. Mit einem Ventilator wurde Raumluft zwischen den beiden Glasscheiben hindurchgeblasen, außerdem sorgten zwei große Ventilatoren für Kühlung mit Raumluft direkt an den WINKLER-Flaschen.

II.2.3. Die ökotoxikologischen Testparameter

Im Kap. II.1. "Grundlagen der ökotoxikologischen Bewertung" wurden die Testparameter O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung, Wachstumsraten, pH, die aus den gemessenen Daten errechenbaren Größen "Chlorophyllgehalt pro Zelle", " O_2 -Produktion pro Zelle und Zeiteinheit" und "Aktivität" und die anzuwendenden Quantifizierungsmethoden dargelegt. Im weiteren soll die Meßmethodik für diese Testparameter ausgeführt werden.

II.2.3.1. O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung

Wie in der Einleitung bereits beschrieben, wurde zur O_2 -Produktions- und O_2 -Zehrungsmessung die Hell-Dunkel-Flaschen-Technik (32) angewendet. Der O_2 -Gehalt des Wassers wurde nach dem WINKLER-Verfahren (59, 60, 61) bestimmt. Nach dem Ausfällen des O_2 wurden die verschlossenen WINKLER-Flaschen (110 - 120 ml Volumen) in kleinen Wasserbecken versenkt, wo sie über Nacht im Kühlschrank (ca. 5°C) stehen blieben. Bei einigen Vorversuchen hatte sich herausgestellt, daß die Sedimentation der Manganoxyside erst nach dieser Zeit vollständig ist. Die titrierbaren O_2 -Werte waren gegenüber jenen aus nur bis zu 4 Stunden abgestellten Flaschen stets höher.

Bei der in der Limnologie üblicherweise im Freiland angewandten Hell-Dunkel-Flaschen-Technik werden die unverdunkelten und die mit Aluminiumfolie verdunkelten WINKLER-Flaschen für meist 4, maximal 8 - 9, Stunden (44), im Wasser exponiert.

In dieser Zeitspanne spielt die Sedimentation des Phytoplanktons, durch welche die Produktion beeinflusst werden könnte, nur eine vernachlässigbare Rolle. Im Laborversuch ist eine Expositionsdauer von 48 Stunden wünschenswert, um ausreichend

hohe O₂-Produktions- und O₂-Zehrungswerte bei den doch relativ niedrigen Zellkonzentrationen von 10⁵/ml zu erreichen, damit die Chemikalieneinflüsse mit ausreichender Sicherheit nachzuweisen sind. Während einer 48-stündigen Testdauer entwickelte sich jedoch bei ruhigstehenden Flaschen die Algensedimentation zu einem nicht mehr vernachlässigbaren Faktor. So war es notwendig, dafür zu sorgen, daß die WINKLER-Flaschen während der 48 Stunden ständig bewegt wurden. Ein Schüttelbrett herkömmlicher Art reicht bei luftfrei verschlossenen Flaschen nicht aus, weshalb ich ein Rad (Abb. 7) konstruierte, auf dem die Flaschen radial angebracht werden konnten. Dieses Rad (Algenrad) wurde während der Versuchsdauer mit einer Umdrehungszahl von 5 U/min in Bewegung gehalten. Das Algenrad stand senkrecht vor einer mit sieben 20 W-"True-lite"-Röhren im lichten Abstand von 3,5 cm bestückten Wand. Um eine optimale Lichtausbeute zu erreichen, war diese Wand mit einem die ganze Fläche bedeckenden Spiegel versehen. Im Abstand von 10 cm wurde die für die Tests erwünschte Lichtstärke von 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ (gemessen auf Höhe der WINKLER-Flaschenmitte) erreicht. Zusätzlich zum Durchmischungseffekt gewährleistete die ständige Rotation des Algenrades eine für jede einzelne Flasche identische Lichtmenge während der Versuchsdauer.

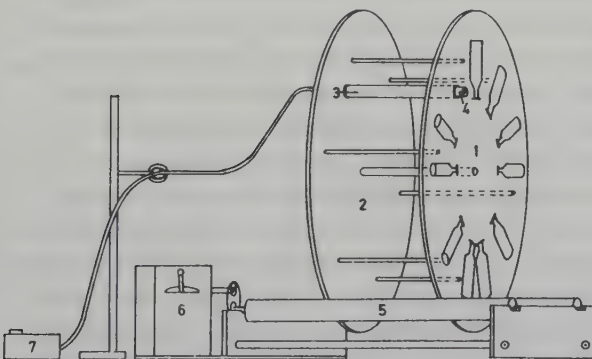


Abb.7. Algenrad .

- | | |
|--|-----------------------------|
| 1: Vorderseite: durchsichti-
ges Plexiglas | 4: Quantensonde |
| 2: Rückseite : graues PVC | 5: Gummiwalze |
| 3: Kugelgelagertes Halterrohr
für Quanten-Sonde | 6: Regelbarer Antriebsmotor |
| | 7: Quanten-Integrator |

Für die Bestimmung der O₂-Produktions- und O₂-Zehrungsveränderung unter dem Einfluß einer definierten Konzentration einer Chemikalie sind 12 Flaschen (davon sechs mit und sechs ohne Testchemikalie) notwendig:

2 Parallelfラスchen nicht verdunkelt (Hell-Flaschen), 2 verdunkelte Flaschen (Dunkel-Flaschen) und 2 Flaschen zur Bestimmung der O_2 -Ausgangskonzentration (Sofort-Flaschen).

Für eine genaue Bestimmung des O_2 -Zuwachses bzw. der O_2 -Abnahme ist der Auffüllvorgang der Testflaschen von großer Wichtigkeit. Wie bereits erwähnt, muß für die Tests ausschließlich Algenmedium verwendet werden, das beim normalen Chemostat-Durchflußbetrieb anfällt. Um 12 WINKLER-Flaschen zu füllen, sind ca. 1,4 l Medium erforderlich. Diese Menge muß jedoch um einiges übertroffen werden, damit beim Füllen der WINKLER-Flaschen ein ausreichender Überlauf eine Durchmischung mit Luft- O_2 ausschließt. Der Auffangkolben der Chemostatanlage (Abb. 1) faßte maximal 2,2 l. Das Füllen dieses Kolbens in der Durchflußgeschwindigkeit dauerte ca. 44 h, wobei die weiter wachsenden Algen eine zu hohe Dichte erreichten. Deshalb und um evtl. PO_4 -P-Mangel vorzubeugen, wurde vor der Abflusumschaltung auf den Auffangkolben dieser mit 500 ml der gleichen Nährlösung aber mit 5-facher PO_4 -P-Konzentration versehen. Bis der Auffangkolben auf 2,2 Liter gefüllt war, dauerte es nun ca. 34 h, wonach wieder eine Dichte von ca. 9×10^4 Zellen/ml erreicht war. Um auch den WINKLER-Flaschen während der 48-stündigen Testdauer ausreichend PO_4 -P zu weiterem Wachstum zur Verfügung zu stellen und die Zellzahl auf die im Freiland vorzufindende Algendichte von ca. 5×10^4 /ml für den Testbeginn zu reduzieren, wurden jeweils 700 ml des gut durchmischten Algenmediums in zwei 5 l-Flaschen gegeben, in denen sich jeweils bereits 400 ml Nährlösung mit 155 $\mu gP/l$ befanden. Diese Verdünnung ergab eine durchschnittliche Zellzahl von $5,09 \times 10^4/l$ ($s = 0,75 \times 10^4$) bei 52 ausgewählten Tests unter normaler Chemostatfunktion. Die 400 ml Nährlösungszugabe konnte benutzt werden, um in einer der zwei 5 l-Flaschen die Testchemikalie zu lösen. Die Abfüllanordnung in Abb. 8 ermöglichte das Auffüllen der WINKLER-Flaschen mit einem auf dem Flaschenboden aufgesetzten Vitonschlauch (20 cm) langsam von unten nach oben. Der Überlauf war mittels einer Federschlauchklemme regulierbar, so daß die 1100 ml für je 6 WINKLER-Flaschen optimal genutzt werden konnten. Die Auffüllreihenfolge war:

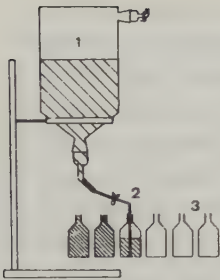


Abb. 8. Abfüll-Anordnung

- 1: 5 l-Flasche mit Hahn
- 2: Vitonschlauch (3 mm innen) mit Feder-schlauchklemme
- 3: WINKLER-Flaschen

Sofort-Flasche, Hell-Flasche, Dunkel-Flasche, Hell-Flasche, Dunkel-Flasche, Sofort-Flasche. Eine evtl. hohe Differenz im O_2 -Gehalt der Sofort-Flaschen konnte so auf eine O_2 -Veränderung durch den Auffüllvorgang aufmerksam machen. Für die O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung wurden jeweils aus der 1. bzw. 2. Dreiergruppe getrennte Werte berechnet. Diese sind in den Ergebnisdarstellungen getrennt aufgeführt und sind, wenn nicht anders angegeben, in den Abbildungen mit jeweils gleichem Symbol (x bzw. o bzw. ●) gekennzeichnet. Die Mittelwerte dieser beiden Wertegruppen

wurden zur jeweiligen Kurvenberechnung herangezogen, da die Parallelwerte aus den beiden Dreiergruppen nicht aus unabhängig angesetzten Versuchen stammten.

Aus den Differenzen zwischen den Hell-, Dunkel- und Sofort-Flaschen lassen sich die O_2 -Netto-, -Bruttoproduktion und -Zehrung bestimmen: Die Differenz zwischen dem O_2 -Gehalt in den Hell- und Sofort-Flaschen entspricht der O_2 -Nettoproduktion, die Differenz zwischen dem O_2 -Gehalt in den Hell- und Dunkel-Flaschen entspricht der O_2 -Bruttoproduktion und die Differenz zwischen dem O_2 -Gehalt in den Sofort- und in den Dunkel-Flaschen entspricht dem O_2 -Verlust durch Respiration (= O_2 -Zehrung) (32). Es muß nochmals (vgl. Kap. II.1.1.) deutlich herausgestellt werden, daß nur die O_2 -Nettoproduktion und O_2 -Zehrung wirklich gemessen werden. Die O_2 -Bruttoproduktion ergibt sich aus der Summe von O_2 -Nettoproduktion und O_2 -Zehrung.

Voraussetzung für diese Rechnung sind zwei Annahmen (32):

- 1. Die Rate der Dunkelatmung ist im Licht gleich groß wie im Dunkeln.
- 2. Es gibt neben Photosynthese und Atmung keine anderen biologischen oder chemischen Vorgänge, die den O_2 -Gehalt verändern.

Punkt 1 wird allgemein in der limnologischen Praxis, aber auch in Laborversuchen (62), vorausgesetzt. Physiologische Untersuchungen an Chlorella-Arten in früheren Jahren (63, 64, 65) haben keine Nachweise erbringen können, daß sich die Atmung unter normalen Verhältnissen (z.B. O₂-Konzentration nicht unter 0,5 % Sättigung (63), Tageslicht ohne zu hohen kurzwelligen Anteil (64)) während Dauerlichteinflusses verändert (65). Einschränkungen, die aufgrund von Ergebnissen aus pflanzenphysiologischen Untersuchungen der letzten Jahre gemacht werden müssen, sind im Kap. II.1.1. bereits beschrieben. Die unter Punkt 2 fallenden biologischen Faktoren, die zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen könnten, wurden durch steriles Arbeiten ausgeschaltet. Waren unter dem Mikroskop bei 700-facher Vergrößerung im Phasenkontrast außer Ch. fusca keine anderen Organismen (z.B. Bakterien) zu erkennen, wurde angenommen, daß eine unerwünschte biologische Beeinflussung des O₂-Gehaltes ausgeschlossen war. Mögliche abiotisch bedingte Veränderungen des O₂-Gehaltes wurden in einer gesonderten Versuchsreihe untersucht (vgl. Kap. II.2.4.1.).

Bei Beginn der Versuche bereitete es große Schwierigkeiten, die WINKLER-Flaschen für 48 Stunden blasenfrei zu halten. Die Blasenbildung wurde auf Verdunstung zurückgeführt, da in der limnologischen Freilandpraxis die WINKLER-Flaschen untergetaucht werden und auch bei 200 %iger O₂-Übersättigung keine Blasen zu beobachten sind (44, 66). Um dieses Untertauchen zu simulieren, wurden über die WINKLER-Flaschenstopfen Gummikappen aus Silikonkautschuk gezogen, die dicht mit dem Wulst des Flaschenhalses abschlossen. Der Zwischenraum zwischen dem Wulst des Flaschenhalses und dem Kopf des Glasstopfens wurde mittels einer Pipette mit Nährlösung gefüllt. Da nun in den Dunkel-Flaschen bei Verwendung der Gummikappen keine Blasen mehr auftraten, mußte die sich in den Hell-Flaschen einstellende O₂-Übersättigung zumindest mitverantwortlich für die dort noch vorhandene Blasenbildung sein. Das Algenmedium hatte bei Testbeginn eine O₂-Sättigung von 100 - 110 % und in den Hell-Flaschen der Kontrollen bei Testende 140 - 160 %. Um nun die O₂-Sättigung bei Testbeginn zu reduzieren, wurde die

400 ml-Verdünnungsnährlösung, mit der anschließend die Algenkultur vor Testbeginn gemischt werden sollte, ca. 30 Minuten lang gekocht und somit ihr O_2 -Gehalt herabgesetzt. Die Folge war eine O_2 -Sättigung bei Testbeginn von ca. 90 %. Die Hell-Flaschen der Kontrollen hatten bei Testende eine O_2 -Sättigung von 120 - 130 %. Diese Erniedrigung der Sättigungswerte reichte aus, um die Blasenbildung während der Testzeit von 48 Stunden völlig zu unterbinden.

Um zu überprüfen, ob die Testdauer von 48 h im Hinblick auf den zeitlichen Verlauf der O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung vertretbar ist, wurden Versuche über den zeitlichen Verlauf der O_2 -Produktion und der O_2 -Zehrung in den WINKLER-Flaschen durchgeführt. Bei der Bestimmung des zeitlichen Verlaufs der O_2 -Nettoproduktion wurden aus einer Anzahl von gleichzeitig mit gleicher Algenkultur angesetzten Hell-Flaschen in mehrstündigem Abstand Flaschen ausgewertet, ebenso bei der O_2 -Zehrungsbestimmung mit Dunkel-Flaschen. Bei einem Nahrungsversuch zur Bestimmung des O_2 -Zehrungsverlaufes in Hell-Flaschen wurde wie folgt vorgegangen: 10 Hell-, 2 Sofort- und 1 Dunkel-Flasche wurden gleichzeitig angesetzt (14.30 Uhr); die Dunkel-Flasche wurde nach 4 h (18.30 Uhr) bestimmt. Zu folgenden Zeiten wurde jeweils eine Hell-Flasche verdunkelt und eine Hell-Flasche ausgefällt: 2. Tag: 7.00 Uhr, 13.00 Uhr und 19.00 Uhr, am 3. Tag: 7.00 Uhr und 14.30 Uhr und nach jeweils 4 h die verdunkelte Flasche bestimmt; d.h. durch die Differenz zu der 4 h vorher ausgewerteten Hell-Flasche wurde die O_2 -Zehrung berechnet. Durch diese Anordnung hoffte ich Hinweise zu bekommen auf die Vergleichbarkeit des O_2 -Zehrungsverlaufes in den Dunkel- und Hell-Flaschen.

Der O_2 -Bruttoproduktionsverlauf wurde aus den Ergebnissen der Nettoproduktions- und Zehrungsversuche ermittelt.

II.2.3.2. Wachstumsrate

In Kap. II.1. ist beschrieben, daß die Wachstumsrate anhand verschiedener Meßparameter beschrieben werden soll (Zelltei-

lungsrates, ermittelt durch Veränderung der Zelldichte und zwei Methoden der Chlorophyllbestimmung).

Zur Bestimmung der genannten Parameter wurden zum Teil separate Versuche nach dem selben Versuchsablauf wie bei der O₂-Produktion (s. Kap. II.2.3.1.) durchgeführt, oder bei den O₂-Produktionsversuchen zusätzlich aus den 5 l-Abfüllflaschen 2 WINKLER-Flaschen (mit und ohne Chemikalie) gefüllt und am Algenrad befestigt. Es stand dadurch jeweils der gesamte Inhalt der Flaschen (ca. 120 ml) für die Zellzahl- und Chlorophyllbestimmung zur Verfügung. Die Wachstumsraten wurden sowohl in den Hell- als auch Dunkel-Flaschen bestimmt.

II.2.3.2.1. Zelldichtebestimmung

Die Zelldichtebestimmung, die auch zur Aufrechterhaltung und Kontrolle des Chemostatbetriebes notwendig war, geschah durch Auszählen der Algen mit dem Umkehrmikroskop bei 700-facher Vergrößerung im Phasenkontrast nach der UTERMÖHL-Methode (32, 67). Die Algen wurden zu diesem Zweck mit 0,5 ml LUGOL'scher Lösung (32) pro 15 ml Laborkultur fixiert und angefärbt.

II.2.3.2.2. Bestimmung von aktivem Chlorophyll a

Aus den für diese Bestimmung gedachten WINKLER-Flaschen der Laborversuche wurden definierte Volumina (ca. 100 ml) mit einem SARTORIUS-Filtriergerät Typ SM durch 5 cm-Glasfaserfilter (SCHLEICHER+SCHÜLL Nr. 6) filtriert. Die Filter mit dem Phytoplanktonrückstand wurden bis zur gemeinsamen Weiterverarbeitung bei -25°C und Dunkelheit max. 3 Monate in PVC-Zentrifugenröhrchen (ca. 12 ml Volumen) mit Lamellenstopfen aufbewahrt.

Bei der Weiterverarbeitung wurden 10 ml 75°C heißes 90 %iges Äthanol in die Zentrifugenröhrchen gegeben und diese nach sofortigem Verschließen eine Minute in ein Wasserbad derselben Temperatur zur Extraktion gestellt und danach unter fließend kaltem Wasser auf Raumtemperatur abgekühlt. Sie kamen dann für die Dauer von 15 Minuten zur vollständigen Zerstörung

der Zellen in ein Ultraschallbad. Nach anschließendem 45-minütigen Stehenlassen bei Raumtemperatur im Dunkeln zur Sedimentierung der Schwebepartikel aus Zellteilen und Fasern der Glasfaserfilter und weiteren Extraktion, wurden sie 15 Minuten bei ca. 5000 U/min und 2°C zentrifugiert. Die Extinktion wurde in 1 cm-Küvetten bei 750 nm und 665 nm gegen 90 %iges Äthanol gemessen. Nach Zugabe von je 1 Tropfen 2n HCl, zur Überführung in Phäopigment, wurde die Messung wiederholt.

Folgende Formel diente zur Berechnung der Konzentration von aktivem Chlorophyll a:

$$\text{Chl a} = (E_O - E_A) (R/R-1) K(v/Vd)$$

Chl a = Chlorophyll a in µg/l

E_O = Extinktion bei 665 nm vor Ansäuerung

E_A = Extinktion bei 665 nm nach Ansäuerung

(bei E_O und E_A sind die 750 nm-Werte bereits abgezogen)

R = maximaler Säurequotient ($E_O/E_A = 1,7$) für Extrakte die kein Phäophytin enthalten

K = 1000 mal den Reziprokwert des spezifischen Absorptionskoeffizienten von Chlorophyll a bei 665 nm für: 90 % Äthanol = 11,49

v = Volumen des Extraktionsmittels (10 ml)

V = filtrierte Wasservolumen (l)

d = Schichtdicke der Küvette (1 cm)

Das Aufschlußverfahren wurde aus verschiedenen Literaturstellen zusammengestellt (68, 69, 70, 71) und nach eigenem Ermessen modifiziert. Die Formel entstammt einer Großpraktikumsanleitung des Limnologischen Instituts Konstanz (71).

Über die Fehlerbreite der Aufbereitungs- und Berechnungsmethoden gehen die Auffassungen auseinander. RICHARDS und THOMPSON (70) geben sie bei Chlorophyll a mit ± 14 % an. STRICKLAND und PARSON (69) beziffern sie auf $\pm 5,7$ % bei 5 µg Chlorophyll a. Nach meinen Erfahrungen tendiere ich, ohne eigene Berechnungen angestellt zu haben, eher zur größeren der beiden Angaben.

II.2.3.2.3. Chlorophyll-Fluoreszenzmessung

Für einen Teil der Untersuchungen stand vom Institut für Biophysik der Universität Hannover ein neu entwickeltes Fluorometer zur Verfügung. Durch den möglichen Akkubetrieb ist es netzunabhängig. Es dient der "Analyse der Fluoreszenzemission der am Photosyntheseprozess beteiligten Farbstoffe". Dazu nutzt es die Fluoreszenz, die bei der Anregung des Pigmentmoleküls "P 680" im Photosystem II der Photosynthesekette frei wird. Das Gerät arbeitet mit einer Xenon-Hochdruckentladungsröhre als Impulslichtquelle.

Das zu messende Wasser wird in eine 25 ml fassende Küvette gefüllt. Um bei Algenpopulationen unterschiedlichen physiologischen Zustands aber gleichen Chlorophyllgehaltes gleiche Werte der Fluoreszenzausbeute zu bekommen, wird die Probe mit 0,5 ml einer 5×10^{-3} molaren 3-(4-chlorphenyl)-1,1-dimethyl-Harnsäure (CMU), einem Herbizid (72), in 50 %igem Aceton vergiftet. Das CMU verhindert den Elektronenübergang vom Elektronenakzeptor "Q" auf die Redoxkette des Photosystems II, wodurch maximale Fluoreszenz erreicht wird. Nach 5 Minuten kann die Probe gemessen werden. Das Fluorometer liefert Relativwerte in einem Bereich von 0 - 1000. Alle in diesem Kapitel gemachten Angaben entstammen der Diplomarbeit von E. SCHULZE (73) in dessen Rahmen dieses Gerät entwickelt wurde.

II.2.3.3. pH-Messung

Nur innerhalb eines bestimmten artspezifischen pH-Bereichs ist das Algenwachstum pH-unabhängig. Aus diesem Grund ist eine Kontrolle des pH-Wertes unumgänglich. Wie schon erwähnt (vgl. Kap. II.1.) kann die pH-Veränderung in den völlig abgeschlossenen Versuchsflaschen außerdem als Parameter für die Photosynthese- und Atmungsleistung herangezogen werden, da deren Veränderungen zu einer Änderung der CO_2 -Gehalte führen. Da die pH-Veränderung die Summe aus Photosynthese, Atmung und Wachstumsrate ist, wurde sie als allgemeiner Wachstumsparameter in die Betrachtung mit einbezogen. Gemessen wurde der pH mit einem Digital-pH-Meter der Fa. WTW - Weilheim.

II.2.4. Fehlerquellen

Bei Anwendung der Hell-Dunkel-Flaschen-Methode in der limnologischen Freilandpraxis geht man davon aus, daß Veränderungen im O_2 -Gehalt in den WINKLER-Flaschen zum überwiegenden Teil auf biotische Faktoren (Algen- und Bakterienaktivität) zurückzuführen sind und abiotische Faktoren (Redoxreaktionen, Lichteinfluß) vernachlässigt werden können. Im 48-stündigen Laborversuch scheint es jedoch vorstellbar, daß es im Zusammenwirken mit der synthetischen Nährlösung hoher Salzkonzentrationen zu nicht mehr vernachlässigbaren abiotisch bedingten Veränderungen der O_2 -Konzentration kommen kann. Außerdem könnte ein zusätzlicher Einfluß durch die Testchemikalie möglich sein.

Eine weitere Fehlerquelle liegt in einer möglichen Veränderung der Konzentration der Testchemikalien im Versuchszeitraum während des Versuchsansatzes und der -durchführung durch Adsorption an den Gefäßen und Volatilität.

Zur Klärung und evtl. Berücksichtigung dieser Fehlerquellen wurden entsprechende Versuche durchgeführt.

II.2.4.1. Abiotisch bedingte Einflüsse auf den O_2 -Gehalt

Diese Problematik wurde unter den in den Versuchen gebotenen unterschiedlichen Lichtintensitäten und der Dunkelheit unter Verwendung der sterilen Nährlösung ohne bzw. mit den vier Testchemikalien (vgl. Kap. III) in der jeweils vorgesehenen höchsten Konzentration und wenn nötig auch in niedrigeren Konzentrationen untersucht. Die Versuchsdurchführung entspricht der besprochenen Methodik zur O_2 -Produktions- und O_2 -Zehrungsmessung (vgl. Kap. II.2.3.1.).

a) Ohne Lichteinwirkung:

Geprüft wurden die Unterschiede zwischen der O_2 -Ausgangskonzentration und der O_2 -Endkonzentration in den Dunkel-Flaschen nach 48 h.

Bei fehlender Testsubstanz bzw. unter Verwendung der vorgesehenen Höchstkonzentration der vier Testchemikalien (1,0 ppm Atrazin, 10 ppm 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, 1,0 ppm Pentachlorphenol und 10 ppm p-Nitrophenol; vgl. Kap. III) waren die Unterschiede kleiner oder gleich dem maximalen Bestimmungsfehler von $\pm 0,05$ mg O₂/l.

Durchschnittliche Differenz:

- 0,009 mg/l; s = 0,025; N = 26 (28 Messwerte, davon fielen zwei nach t-Test heraus).

Daraus folgt, daß unter den genannten Bedingungen kein wesentlicher Einfluß auf die O₂-Konzentration besteht.

b) Mit-Lichteinwirkung (150 μ E/m²sec):

In den Hell-Flaschen mit reiner Nährlösung und Nährlösung mit 10 ppm p-Nitrophenol bzw. 1,0 ppm PCP bzw. 1,0 ppm Atrazin wurde gegenüber der Ausgangskonzentration und auch der Endkonzentration der Dunkel-Flaschen ein Minus der O₂-Konzentration nach 48 h bei 150 μ E/m²sec von durchschnittlich 0,869 mg O₂ /l ($s_{\bar{x}} = 0,042$; N = 36) gemessen. Die Unterschiede der O₂-Konzentrationen in den Hell-Flaschen mit Nährlösung plus einer der drei Chemikalien in der genannten Konzentration zu den O₂-Konzentrationen in den Hell-Flaschen mit reiner Nährlösung lagen immer innerhalb des maximalen Bestimmungsfehlers, d.h. die 3 Chemikalien haben in den eingesetzten Höchstkonzentrationen keinen zusätzlichen Einfluß auf die O₂-Abnahme in den Hell-Flaschen, weshalb die Ergebnisse aus diesen Flaschen zur obigen Mittelswertsbildung mit verwendet wurden.

2,4-D führte bei 10 ppm und 5 ppm zu einer zusätzlichen Abnahme des O₂ in den Hell-Flaschen.

O₂-Sofortflaschen minus O₂-Hell-Flaschen und O₂-Dunkel-Flaschen minus O₂-Hell-Flaschen:

10 ppm: $\bar{x} = 1,118$ mg O₂/l; $s_{\bar{x}} = 0,037$; N = 8

5 ppm: $\bar{x} = 1,057$ mg O₂/l; $s_{\bar{x}} = 0,006$; N = 4

Das Ergebnis mit 1,0 ppm 2,4-D von $\bar{x} = 0,925 \text{ mg O}_2/\text{l}$;
 $s_{\bar{x}} = 0,017$; $N = 4$ unterscheidet sich nach t-Test nicht mehr
 signifikant von $0,869 \text{ mg O}_2/\text{l}$ ($s_{\bar{x}} = 0,042$).

Alle im Folgenden genannten O_2 -Bruttoproduktions- und O_2 -Nettoproduktionswerte aus den Labortests und die berechneten prozentualen Veränderungen durch Chemikalieneinwirkung sind entsprechend korrigiert.

c) Mit Lichteinwirkung unterschiedlicher Lichtstärken:

Da Tests mit 0,05 ppm PCP und 0,2 ppm Atrazin unter verschiedenen Lichtstärken geplant waren, war es natürlich auch von Interesse zu wissen, inwieweit sich die bei $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ gemessene O_2 -Abnahme in Hell-Flaschen in reiner Nährlösung bzw. Nährlösung plus PCP oder Atrazin unter verschiedenen Lichtstärken verhält. Das Ergebnis der Versuche mit reiner Nährlösung und Lichtstärken von 5,9 - $880 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ ist Abb. 9 zu entnehmen.

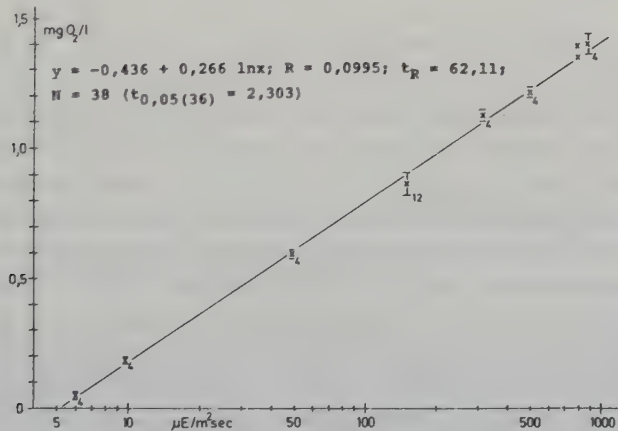


Abb.9. Lichtabhängiger Abbau von O_2 in den Hell-Flaschen mit reiner Nährlösung ($\text{O}_{20R} - \text{O}_{2tR}$) innerhalb 48 h (eingetragene Zahlen = Anzahl der Meßwerte; $\bar{x}$ = Standardabweichung s).

Die O_2 -Konzentrationen in den Hell-Flaschen mit Nährlösung plus 0,05 ppm PCP bzw. 0,2 ppm Atrazin unterschieden sich bei

maximaler Lichtstärke innerhalb des maximalen Bestimmungsfehlers von $\pm 0,05$ mg O_2 /l nicht von den O_2 -Konzentrationen in den Hell-Flaschen mit reiner Nährlösung. Aufgrund dieses Ergebnisses und der genannten Ergebnisse mit 1,0 ppm PCP und 1,0 ppm Atrazin bei 150 $\mu E/m^2 \text{sec}$ und völliger Dunkelheit, wird kein zusätzlicher Einfluß auf die O_2 -Abnahme in den Hell-Flaschen durch 0,05 ppm PCP und 0,2 ppm Atrazin im genannten Lichtstärkebereich angenommen.

Alle O_2 -Bruttoproduktionswerte der Labortests mit 0,05 ppm PCP und 0,2 ppm Atrazin (Kap. IV.1.2.2.) bei verschiedenen Lichtstärken sind entsprechend der Regressionsfunktion zu Abb. 9 korrigiert.

II.2.4.2. Konzentrationskontrolle der Testchemikalien

Für jede der verwendeten Testchemikalien wurde ein O_2 -Produktionstest mit der in der Testserie verwendeten Höchstkonzentration mit ^{14}C -markierter Chemikalie durchgeführt. In die 5 l-Abfüllflasche mit 1100 ml Algenmedium inklusive Testchemikalie wurde bis zu einer Radioaktivität von ca. 600 dpm/ml ^{14}C -markierte Testsubstanz zugegeben. Es wurden also ca. 660000 dpm in 1,1 l eingebracht, das entspricht 0,3 μC . Die ^{14}C -markierten Substanzen waren in Aceton gelöst, wodurch auch Aceton mit ins Algenmedium gelangte. Die Acetonkonzentrationen lagen je nach Chemikalie bei 0,2 - 0,7 Vol.-% vom Algenmedium. Dem Vergleichsalgenmedium wurde die jeweils gleiche Menge Aceton zugegeben. Nach Versuchsende wurden den WINKLER-Flaschen vor der O_2 -Ausfällung jeweils 0,5 ml entnommen. Bei dieser Entnahmemenge war es nach Zugabe der WINKLER-Reagenzien noch möglich, die Flaschen wieder luftfrei zu verschließen. Die Aktivität wurde nach Einbringen der 0,5 ml in 9,5 ml Hydroluma-Scintillationsflüssigkeit gegen 0,5 ml aus der Vergleichs-WINKLER-Flasche in 9,5 ml Hydroluma im Scintillationszähler bestimmt. Die Quenchbestimmung erfolgte durch interne Standardisierung.

Die Überprüfung der Konzentrationen der Testchemikalien im Testsystem erbrachte folgende Ergebnisse für die Konzentra-

tionen in den WINKLER-Flaschen, Nährmedium inklusive Algen, bei Testende:

Testchemikalie	Soll-Konz.	¹⁴ C-best. Konz.	Stand.abw. s in %
Atrazin	1,0 ppm	1,0 ppm	2,5
2,4-D	1,0 ppm	1,0 ppm	1,6
PCP	1,0 ppm	1,0 ppm	2,2
p-Nitrophenol	10,0 ppm	9,7 ppm	0,9
p-Nitrophenol	10,0 ppm	10,0 ppm	1,7

Die ¹⁴C-bestimmten Konzentrationen sind die Mittelwerte aus 4 WINKLER-Flaschen (2 Hell- und 2 Dunkel-Flaschen) eines Testdurchganges.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde davon ausgegangen, daß keine entscheidenden Mengen an Testchemikalien im Laufe des Versuchsansatzes und der Testdurchführung verloren gegangen sind.

Mögliche Veränderungen der Testchemikalien während der Versuchsdauer konnten nicht untersucht werden, da die Suche nach evtl. Metaboliten und deren Identifizierung den Rahmen dieser Arbeit gesprengt hätten.

II.3. Apparatur und Methodik der Freilandexperimente

II.3.1. Beschreibung des Fasanerie-Sees

Der Fasanerie-See liegt im Norden Münchens. Seine morphometrischen und hydrologischen Daten sind in Tabelle 2 (s. Tabellenanhang) zusammengefaßt (74). Er besitzt keinen oberirdischen Zu- und Abfluß. Das den See in seiner Längsrichtung durchströmende Grundwasser fließt in nordnordöstlicher bis nördlicher Richtung und durchquert somit vor Erreichen des Seebeckens die Stadt München. Es ist stark mit Nährstoffen belastet. Es handelt sich um einen für Freizeit Zwecke umgestalteten Baggersee. Der See ist eutroph; 1978 (44) war während

der ganzen Vegetationsperiode praktisch kein Orthophosphat im Seewasser nachweisbar; das partikuläre Phosphat bewegte sich im Bereich von 10 - 30 $\mu\text{g/l}$ (höhere Werte nur knapp über dem Seeboden); die $\text{NO}_3\text{-N}$ -Konzentration lag bei 2 - 4 mg/l . Der O_2 -Haushalt ist typisch für einen hocheutrophen See (66). Der Gehalt an aktivem Chlorophyll a lag im August 1978 bisweilen bei über 20 $\mu\text{g/l}$ (66). Im Versuchszeitraum 1981 wurden ähnliche Bedingungen gemessen (75). Die bei Testdurchführung gemessene Konzentration an aktivem Chlorophyll a lag zwischen 5,5 und 34,3 $\mu\text{g/l}$ (Mittelwert = 12,9 $\mu\text{g/l}$; $s = 5,9$). Ich wählte diesen See für meine Freilanduntersuchungen, weil er limnologisch verhältnismäßig gut untersucht ist.

II.3.2. Strahlungsmessung und Sichttiefenbestimmung

Die Strahlungsmessung erfolgte mit der im Kap. II.2.2. beschriebenen Quantensonde in Verbindung mit einem Integrator (vgl. Kap. II.3.4.1.). Beim Integrator war darauf zu achten, daß er bei ca. 560 $\mu\text{E/m}^2\text{sec}$ seinen Sättigungswert erreicht, d.h. es durfte während der Versuchsdauer kein darüberliegender Wert vorkommen. Zur Kontrolle wurde deshalb zur Mittagszeit für einige Sekunden der Integrator durch das Quanten-Photometer ausgetauscht und eine Momentanmessung durchgeführt.

Die Sichttiefe, eine Orientierungshilfe über Schwankungen der Phytoplanktondichte (44, 76, 77) und Lichttransmission, wurde mit der SECCHI-Scheibe, einer weißen Metallscheibe von 25 cm Durchmesser, befestigt an einer Meßleine, im Bootsschatten gemessen. Die Sichttiefe entspricht jener Tiefe, bei der die Scheibe gerade noch zu erkennen ist (78). Die Fehlerwahrscheinlichkeit dieser sehr subjektiven Meßmethode erhöht sich bei stärkerem Wellenschlag und damit verbundener Verstärkung der Oberflächenreflexion.

II.3.3 Temperaturmessung

Die Zusammensetzung der Phytoplanktonpopulation ist u.a. von den Durchmischungsverhältnissen des Sees abhängig. Es ist des-

halb sinnvoll, in Abständen von ein paar Tagen Temperatur-Tiefenprofile zu erstellen, um evtl. vorkommende überraschende O_2 -Produktionsergebnisse durch vielleicht auftretende Änderungen im Schichtaufbau des Sees erklären zu können. Zur Temperaturmessung diente ein batteriebetriebenes Temperaturmeßgerät mit digitaler Anzeige in $1/10^\circ C$ -Schritten mit Unterwassersonde (Therm 2241-1, Ahlborn Meß- und Regelungstechnik).

II.3.4. Die ökotoxikologischen Testparameter

II.3.4.1. O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung

Die Messungen der O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung fand nach der im Kapitel II.2.3.1. beschriebenen Hell-Dunkel-Flaschen-Methode statt. Das Problem des ausperlenden O_2 bei hoher Übersättigung trat nicht auf. Problematisch war die Menge des produzierten und verbrauchten O_2 . Da bei der O_2 -Bestimmung die Abweichungen der Parallelproben bis zu $0,05 \text{ mg } O_2/l$ betragen, muß mindestens eine O_2 -Produktion von $1 \text{ mg } O_2/l$ gefordert werden, damit ein Bestimmungsfehler von $\pm 5 \%$ nicht überschritten wird. Ende Mai, Anfang Juni konnte dieser Produktionswert wegen zu niedriger Phytoplanktendichte nicht erreicht werden (Sichttiefe mehr als 4 m !). Orientierungshilfe für die Wasserentnahme- und Expositionstiefe waren die Sichttiefe und die Bewölkungsdichte. Die Versuchstiefe blieb stets zwischen $0,5 \text{ m}$ und der jeweiligen Sichttiefe; bei wolkenlosem Himmel nahe der Sichttiefe und bei tiefbewölktem regnerischem Himmel $0,5 \text{ m}$ unter der Wasseroberfläche. Die Expositionstiefen auf Grund dieser Orientierung führten während der Versuchsdauer zu einer durchschnittlichen Lichtstärke von $289 \mu E/m^2 \text{ sec}$ ($s = 61 \mu E/m^2 \text{ sec}$; $N = 36$). Leider konnte ich mich bei den Freilandversuchen nicht an die Lichtstärke der Laborversuche halten, da in Tiefen mit $150 \mu E/m^2 \text{ sec}$ Produktionswerte vorlagen, die zu niedrig waren, um verlässliche Meßergebnisse zuzulassen. Die Kurvenverläufe in Abb. 5 und 6 weisen im Bereich von $150 - 300 \mu E/m^2 \text{ sec}$ auf keine wesentlichen Unterschiede im Aktivitäts- und Produktionsverhalten hin.

Zur Wasserentnahme diente ein SCHINDLER-Schöpfer (Fassungsvolumen $3,5 \text{ l}$), der eine Wassersäule von 40 cm Höhe aussticht

und in der gewünschten Tiefe verschließbar ist. Die Wasserprobe, 4 l aus zwei Schöpfvorgängen, wurde zunächst in einer Sammel-Glasflasche aufgefangen, gut durchgeschüttelt und dann in zwei 5 l-Flaschen mit je 2 l aufgeteilt, so daß sich in jeder Flasche nach Hinzugabe der in destilliertem Wasser gelösten Testchemikalien bzw. einer gleichen Menge destillierten Wassers eine Menge von 2,2 l befand. Die Menge destillierten Wassers variierte zwischen 2 und 250 ml je nach Löslichkeit und erwünschter Menge der Testchemikalie. Der Abfüllvorgang entsprach dem im Kap. II.2.3.1. Abb. 8 beschriebenen. Alle diese Arbeiten wurden im Boot durchgeführt.

Während der Schöpf- und Abfüllarbeiten muß ein "Lichtschock" der Algen vermieden werden. Der Schöpfer war deshalb mit schwarzer Folie verklebt. Die Sammelflasche und die 5 l-Abfüllflaschen waren mit Aluminiumfolie verkleidet. Die WINKLER-Flaschen wurden beim Abfüllen in dafür konstruierte lichtundurchlässige PVC-Kästen, aus denen nur die Öffnung der WINKLER-Flaschen ragten, gestellt.

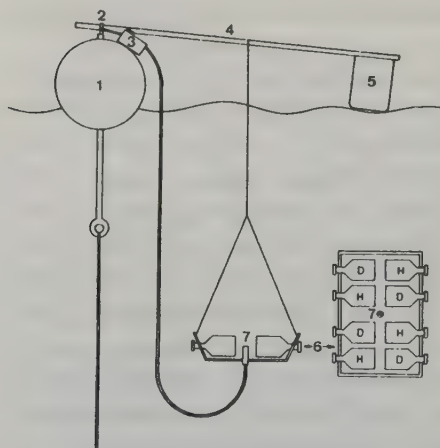


Abb.10. Freiland-Versuchsanordnung

- 1: Fest installierte Boje an der tiefsten Stelle des Sees
- 2: Frei drehbarer Befestigungspunkt
- 3: Quanten-Integrator "LI-500"
- 4: Befestigungsplatte (2,5 m)
- 5: Schwimmboje
- 6: Drahtkorb mit WINKLER-Flaschen
- 7: Quanten-Sonde

Die O₂-Bestimmung nach der WINKLER-Methode ist im Kap. II.2.3.1. beschrieben.

Wasserentnahme und Exposition wurden an der mit einer Boje markierten tiefsten Stelle des Sees durchgeführt. Wie im La-

borversuch wurden 8 WINKLER-Flaschen, 4 Hell- und 4 Dunkel-Flaschen, exponiert (Abb. 10), von welchen je zwei mit der Testchemikalie versehen waren. Die Flaschen lagen waagrecht in einem Drahtkorb, um Beschattungseffekte durch das Phytoplankton zu reduzieren. In der Mitte des Korbes war die nach oben ausgerichtete Quantenmeßsonde befestigt, die verbunden mit dem Integrator, "LI-500" (Firma LI-COR) mit "Modul 192 M", die durchschnittliche PAR (55) über die ganze Versuchsdauer ermittelte.

Die Expositionsdauer betrug 8 Stunden symmetrisch zur Zeit des Sonnenhöchststandes (ca. 12.30 Uhr MEZ), um das entnommene Phytoplankton bei allen Tests bezüglich seiner Produktionsleistung in vergleichbarem physiologischem Zustand anzutreffen (79).

II.3.4.2. Wachstumsrate und pH

Ebenso wie im Laborversuch wurden auch im Freiland die drei Parameter Zelldichte, aktives Chlorophyll a und Chlorophyll-Fluoreszenz untersucht. Da die Zähl- und Meßmethoden mit denen der Laborversuche (vgl. Kap. II.2.3.2. und II.2.3.3.) identisch waren, soll hier nur zusammenfassend auf Abweichungen in der Ausführung eingegangen werden.

Für die Untersuchung der drei genannten Parameter wurden nach dem Abfüllen der Hell- und Dunkel-Flaschen (vgl. Kap. II.3.4.1.) je eine 250 ml-WINKLER-Flasche aus den 5 l-Flaschen mit und ohne Testchemikalie abgefüllt und an zwei Seiten des Versuchskorbes (Abb. 10) befestigt. Die Ausgangswerte der Meßparameter wurden aus dem Restwasser der 5 l-Flaschen bestimmt. Zur Bestimmung der Endwerte wurden für die Zelldichtebestimmung ca. 20 ml und die Chlorophyllbestimmung 200 ml aus den 250 ml-WINKLER-Flaschen verwendet.

Da in den Freilandproben bei einer Versuchsdauer von 8 h wenn überhaupt, dann nur mit äußerst geringen Wachstumsraten zu rechnen ist, wurde auf Dunkel-Flaschen verzichtet.

Die im Freiland vorzufindende Artenvielfalt sollte nicht unberücksichtigt bleiben. Es wurde versucht durch Bestimmung (80, 81) der in den Algenproben vor und nach Testablauf vorliegenden Arten evtl. artspezifische Chemikalienwirkungen festzustellen. Die Ergebnisse können jedoch nur Tendenzen aufzeigen, da die WINKLER-Flaschen während des Tests verschlossen waren und nach dem Test vor der Abfüllung der zu fixierenden Algenprobe zur gleichmäßigen Verteilung der Zellen gut durchgeschüttelt werden mußten, wodurch auch alle durch die Xenobiotika getöteten Zellen mit in die Probe überführt wurden. Nur wenn diese Zellen innerhalb der 8-stündigen Testdauer bereits morphologisch geschädigt oder völlig zersetzt sind, also als "tot" identifizierbar oder nicht mehr vorhanden sind, wäre ein Chemikalieneinfluß unmittelbar registrierbar.

pH-Messungen wurden lediglich zur Charakterisierung des Seewassers vorgenommen.

II.4. Statistische Berechnungen (Regression, Korrelation und t-Test) (82, 83)

Zur Beurteilung der Meßergebnisse über die Xenobiotikawirkungen in Abhängigkeit zu deren Konzentration bzw. zur verwendeten Lichtstärke wird die Berechnung der linearen Regression angewandt. Durch Einsetzen von x oder y als $\ln x$ oder $\ln y$ oder beides in die Funktion $y = a + b \cdot x$ können auch logarithmische Kurvenverläufe mit dieser linearen Regression errechnet werden. Die "Güte" der Korrelation wird mit dem Korrelationskoeffizienten R nach PEARSON (82) beschrieben. Um zu prüfen, ob eine signifikante Korrelation vorliegt, wurde der t -Wert für R (t_R) errechnet.

Soll entschieden werden ob zwei Funktionen signifikant voneinander verschieden sind, wird der t -Wert für die Steigungen b (t_b) der beiden Funktionen errechnet. Der t -Test ist außerdem für die Unterscheidung zweier Punktescharen anwendbar (t_x), als auch für die Klärung der Frage, ob ein neuer Meßwert

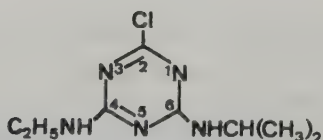
zur vorhandenen Meßwertgruppe innerhalb der erwarteten Wahrscheinlichkeit gehört oder nicht ($t_{\text{für neuen Meßwert}}$). Ist t größer als der für die 95 %-Wahrscheinlichkeit tabellarisch ausgegebene t -Wert ($t_{0,05(\text{Freiheitsgrade})}$) (83), so ist die Korrelation signifikant von Null verschieden bzw. sind die Meßwertgruppen signifikant voneinander verschieden bzw. ist der neue Meßwert signifikant von der Meßwertgruppe verschieden. Die $t_{0,05}$ -Werte für die jeweilige Anzahl der Freiheitsgrade werden pro Kapitel an entsprechender Stelle (z.B. nach der jeweils 1. Regressionsfunktion mit der entsprechenden Anzahl der Freiheitsgrade) mindestens einmal angegeben.

III. AUSWAHL DER TESTCHEMIKALIEN

Es war nicht meine Aufgabe, eine möglichst große Anzahl von Chemikalien auf ihre Wirkungsweise zu untersuchen, sondern es sollten Chemikalien zum Einsatz kommen, deren Wirkungen auf physiologische Prozesse weitgehend bekannt sind, damit die Tauglichkeit dieses Testsystems erarbeitet und überprüft werden konnte. In diesem Sinne war es erstrebenswert, sich für Substanzen zu entscheiden, die sich in ihren Einflüssen auf Stoffwechselprozesse möglichst unterscheiden, um eine vielfältige Aussagekraft des Testsystems zu untermauern. Die Entscheidung fiel auf folgende Substanzen, die in den anschließenden Abschnitten vorgestellt werden: 1. Atrazin, 2. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, 3. Pentachlorphenol und 4. p-Nitrophenol.

III.1. Atrazin

2-Chlor-4-ethylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazin



Molekulargewicht: 215,5

Wasserlöslichkeit: (3,3 - 7) $\times 10^{-2}$ g/l (84)

Eintrag in die Umwelt:

9×10^4 ta⁻¹ (84)

Dampfdruck: 4×10^{-7} mbar
(20 - 25°C) (84)

Atrazin ist ein Vertreter der s-Triazin-Herbizide und kommt vor allem beim Maisanbau zum Einsatz, da Mais ein besonders aktives Entgiftungssystem gegen Atrazin besitzt (85). Es ist in der Lage, die photosynthetische Aktivität isolierter Chloroplasten und die Photosynthese intakter Pflanzen zu hemmen (86).

So wurde an isolierten Chloroplasten eine Hemmung der HILL-Reaktion (87) festgestellt (88, 89). "Die spezifische Bindungsstelle ist mit größter Wahrscheinlichkeit identisch mit dem Elektronenüberträger im Bereich des II. Photosystems

(90)". Neuere Arbeiten sprechen von "Polypeptiden des PS II-Komplexes" als spezifischen Bindungsort von Atrazin und anderen Herbiziden (91, 92). An intakten Pflanzen wurden sowohl Veränderungen histologischer Art (93) als auch in der Feinstruktur der Chloroplasten (94) beobachtet, wobei das Ausmaß der morphologischen Veränderungen von der Lichtmenge abhängig ist (95). Außerdem zeigte sich im Licht und Dunkel unterschiedlicher Einfluß auf den Proteinstoffwechsel (95, 96).

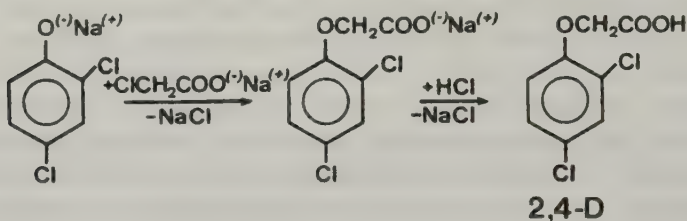
Ch. vulgaris wird im normalen Wachstum behindert, ihr Chlorophyllgehalt wird vermindert, und es wird keine Stärke gebildet (97). 0,25 - 2,5 ppm Atrazin führen zu einer sofortigen Einstellung des Wachstums bei dieser Alge, sie erholt sich jedoch nach 6 - 7 Tagen; bei 5 ppm entfällt diese Erholung (98). Bereits nach einer Stunde im atrazinhaltigen Medium werden 90% des vorhandenen Atrazins von der Alge aufgenommen (98). Die O₂-Produktion von *Ch. pyrenoidosa* ist innerhalb 60 Minuten bei 5×10^{-6} M (1 ppm) Atrazin völlig gehemmt, bei 10^{-7} M (0,02 ppm) um ca. 5% (99). Der EC₅₀-Wert für die O₂ Produktion von 18 Algenspezies liegt bei 60 - 460 ppb (100).

Es sind aber auch Wirkungen, die den Photosyntheseprozess nicht betreffen, bekannt. So wurde herausgefunden, daß Atrazin in Konzentrationen in 10 - 50 mg/l das Wachstum von noch bleichen Sonnenblumenkeimlingen behindert und deutlich den RNS- und Proteingehalt in Stielen und Wurzeln dieser Sprößlinge vermindert. Außerdem hat Atrazin Einfluß auf den Stickstoffstoffwechsel und die Proteinsynthese bei grünen Pflanzen (101, 102), Bakterien (103) und Schimmelpilzen (104).

Atrazin wurde auf Grund vorliegender Aussagen als Testsubstanz ausgewählt, da eine Wirkung auf die Photosyntheseleistung von *Ch. fusca* und des Seephytoplanktons zu erwarten ist. Es sei noch erwähnt, daß in Nebraska, in Grundwasserbrunnen in der Umgebung von Maisfeldern, die mit Atrazin behandelt wurden, bis zu 0,7 ppb Atrazin gefunden worden sind (105).

III.2. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D)

Diese Substanz ist ein Substitutionsprodukt der Phenole und wird durch Umsetzung von 2,4-Dichlorphenolat(Na) mit dem Natriumsalz der Chloressigsäure gewonnen (106):



Molekulargewicht: 221
 Wasserlöslichkeit: 0,06% (86), 0,09% (84)
 Eintrag in die Umwelt: 10^5 ta^{-1} (84)
 Dampfdruck: 10^{-7} mbar (20 - 25°C) (84)

2,4-D gehört zu den Chlor-substituierten Phenoxyessigsäuren, die seit Ende des 2. Weltkrieges als selektive Pflanzenvernichter eingesetzt werden. Sie sind hochaktiv gegen breitblättrige Pflanzen, aber nicht gegen Gräser, und finden vor allem Anwendung im Getreideanbau (107). 2,4-D gehört zu den "Auxin-Herbiziden"; das sind Herbizide die in niedrigen Konzentrationen die wachstumsfördernden Eigenschaften des natürlichen Auxins (IAA) zeigen, wodurch sie das normale Gleichgewicht der Pflanzen, das für Wachstum und Ausdifferenzierung notwendig ist, stören und die Pflanzen abtöten (108, 109). Es unterdrückt die normale Zellteilung und das Längenwachstum in den Wachstumszentren (108). Dem abweichenden Wachstum liegt ein abnormaler Nukleinsäuremetabolismus zugrunde (108). Versuche mit Hafer-Koleoptilen zeigten, daß 2,4-D eine wachstumsregulierende Substanz ist, mit gleicher oder noch größerer Wirkung auf die Zellelongation als IAA (110). Verschiedene Arbeiten berichten über Einflüsse auf Photosynthese und

Atmung. Unter verschiedenen Bedingungen bei der Behandlung mit 2,4-D wurde sowohl eine Steigerung als auch Hemmung der Respiration gefunden (111). Es besteht eine enge Verbindung zwischen dem wachstumsfördernden Effekt von Auxin und der Änderung der Atmung. So wächst die CO₂-Entwicklung nach der 2,4-D-Behandlung von Stielgewebe von *Phaseolus vulgaris*; der O₂-Verbrauch ist bereits nach 24 Stunden erhöht (112). An der gleichen Pflanze zeigt sich eine Korrelation zwischen morphologischen Veränderungen und photosynthetischer Aktivität; die Photosynthese wird gehemmt und die Respiration ist letztlich höher als die Assimilation, wofür z.T. morphologische Veränderungen, z.B. am Wasserleitungssystem, verantwortlich sind (113). Auch im Wurzelgewebe der Ackerwinde wurde ein Anstieg der Atmung festgestellt (114). 30 und 100 ppm 2,4-D führen bei *Anarchis canadensis* ("Wasserunkraut") nach 24 - 48 h zu einer Abnahme der Photosyntheserate bis 45 %, eine Respirationsabnahme von 8 % bei 30 ppm und 42 % bei 100 ppm erfolgt sofort nach Applikation (115).

Auch mit 2,4-D wurden Versuche an isolierten Chloroplasten durchgeführt, deren Ergebnis eine Hemmung der HILL-Reaktion war (116).

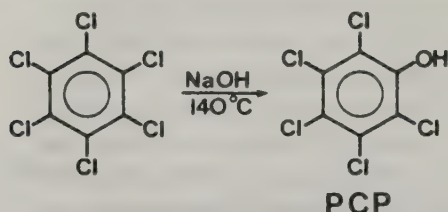
Alle bisher erwähnten Arbeiten beschäftigten sich mit höheren Pflanzen oder Teilen von diesen. Aussagen über die Wirkung von 2,4-D auf Algen gibt es weitaus weniger. Bei *Scenedesmus quadricauda* führen 0,1 ppm und 1 ppm 2,4-D nach 4 Tagen zu einer Herabsetzung der Zellzahl um ca. 30 % gegenüber der Kontrolle; die ¹⁴C-Assimilation wird in geringerem Maße betroffen (117). Die Chlorophyllzunahme einer Kultur von *Ch. pyrenoidosa* zeigt ab 50 ppm 2,4-D deutliche Einbußen (118).

Abgesehen von der Anwendung von 2,4-D als selektives Herbizid im Getreideanbau wird es auch zur Vernichtung von Wasserpflanzen verwendet und dabei im Abstand von 1 oder 2 Jahren in Oberflächengewässer eingebracht (119). Hier liegt ein direktes Interesse über die Wirkung auf das Phytoplankton auf der Hand.

Im Sinne der aufgezeigten Erkenntnisse wurde 2,4-D für dieses Testsystem als allgemein wachstumsbeeinflussende Substanz ausgewählt.

III.3. Pentachlorphenol (PCP)

PCP wird meist aus Hexachlorbenzol aus konzentrierter, wässriger oder alkoholischer NaOH-Lösung bei 140°C unter Druck hergestellt. Die Verseifung verläuft mit 85 %iger Ausbeute (120):



Molekulargewicht: 266,4
 Wasserlöslichkeit: 14 mg/l
 (20°C) (120), 20 - 25
 mg/l (20°C) (72)
 Dampfdruck: 10^{-3} mbar (20 -
 25°C) (84), 0,00011 -
 0,00017 mm Hg (20°C) (120)

Produktion in Japan: 1969, 16 344 Jato (2)

Produktion in USA : 1976, 48 868 x 10³ lbs (121)

PCP findet seine Hauptanwendung aufgrund seiner insektiziden und fungiziden Wirkung in der Holzfarbenindustrie als Holzschutzmittel (120). Es ist ein starkes Zellgift und gehört zur Gruppe der Entkoppler der oxidativen Phosphorylierung. Sein Wirkungsort ist die Verbindung zwischen den Oxidationsreaktionen der Atmungskette und der Phosphorylierung, wodurch zwar die Redoxsysteme der Atmungskette durchlaufen werden, aber die damit verbundene ATP-Bildung unterbleibt, was sich in einer Steigerung der Respiration auswirkt (122).

Arbeiten über die Wirkungsweise von PCP auf Pflanzen und Algen sind bei weitem nicht so häufig wie bei den vorangegangenen Chemikalien. So wird z.B. beschrieben, daß $7,1 \times 10^{-7}$ mol/l (ca. 0,2 ppm) PCP zu Chlorosis bei *Lemna minor* führen (123). Bei trichalen Cyanophyceen der Gattung *Phormidium* (Oscillatoriaceae) führen 1 µg bzw. 100 µg PCP zu 22,6 %iger bzw.

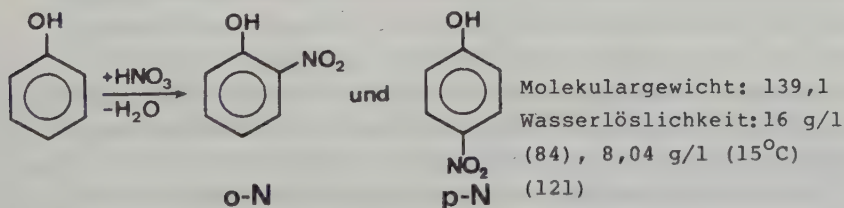
88 %iger Hemmung der Kriechbewegung (124). Bei *Macrocyctis pyrifera* führt 1 mg/l in 2 Tagen zur Photosynthesehemmung (121).

Die Verbreitung von PCP in der Umwelt kann heute nicht mehr übersehen werden. So wurden im Raum Ingolstadt 150 ppb im Boden gefunden (125). Nach Industrieunfällen 1974 und 1976 in den USA wurden in einem See bis zu 81 ppb im Wasser und 1518 ppb im Seesediment gemessen (126, 127).

Von PCP wurde auf Grund der genannten Eigenschaften eine mehr oder weniger unmittelbare Wirkung auf den O₂-Verbrauch im Testsystem erwartet.

III.4. p-Nitrophenol

p-Nitrophenol ist ein Substitutionsprodukt der Phenole. Die Nitrierung von Phenolen mit verdünnter Salpetersäure bei Raumtemperatur führt zu einem Gemisch von o-Nitrophenol (ca. 35 %) und p-Nitrophenol (ca. 15 %):



Die Trennung erfolgt durch Wasserdampfdestillation, wobei nur o-Nitrophenol übergeht (106).

p-Nitrophenol ist eine in der Farbstoffindustrie gebrauchte und als pH-Indikator Verwendung findende Verbindung. Meines Wissens hat sie keine Bedeutung im Zusammenhang mit Pestiziden und hat als Umweltchemikalie noch kein Aufsehen erregt. Die Informationen über ihr biologisches Verhalten sind sehr spärlich. Wie alle Nitrophenole gehört es zu den Entkopplern

der oxidativen Phosphorylierung. An Mitochondrien der Rattenleber wird es als schwächstes Gift von getesteten Nitrophenolen beschrieben (122). Bei *Ch. pyrenoidosa* führt 1 mg/l noch zu keiner toxischen Wirkung; die LC_{50} für *Daphnia magna* liegt bei 35 mg/l und für den Goldfisch bei 10 mg/l (125). Die O_2 -Produktion von *Ch. pyrenoidosa* wird mit 10 mg/l bei 81,8% und mit 250 mg/l bei 58,7% der Kontrolle angegeben (118).

Zum einen gilt p-Nitrophenol als Atmungsgift (122), zum anderen werden hemmende Einflüsse auf die O_2 -Produktion (118) angegeben.

III.5. Zusammenfassung der Kriterien für die Auswahl der Testsubstanzen

Atrazin, 2,4-D und PCP wurden ausgewählt da ihre physiologische Wirkungsweise aus den Ergebnissen zahlreicher Untersuchungen weitgehend bekannt ist und somit neben den Aussagen über die Chemikalienwirkung auch Rückschlüsse gezogen werden können, ob das Testsystem geeignet ist, richtig interpretierbare Ergebnisse zu liefern. Als Atrazinwirkung wurde dabei erwartet, daß gezielte Veränderungen in der O_2 -Produktion festgestellt werden können und die O_2 -Zehrung überhaupt nicht oder in weit geringerem Maße betroffen wird. Veränderungen im Chlorophyllhaushalt sind ebenfalls wahrscheinlich. 2,4-D als allgemein wachstumshemmende Chemikalie sollte sowohl auf die O_2 -Produktion, O_2 -Zehrung als auch auf das Wachstum hemmenden Einfluß haben. PCP, dessen atmungsentkoppelnde Wirkung bekannt ist, sollte eine spezifische Wirkung auf die O_2 -Zehrung zeigen.

Ergebnisse über die Wirkungsweise von p-Nitrophenol sind äußerst spärlich. Es gilt zum einen als Atmungsgift, zum anderen hemmt es unter Umständen auch die O_2 -Produktion. So wurde diese Substanz ausgewählt, um mit Hilfe des Testsystems nähere Erkenntnisse über diese Substanz im Sinne der Fragestellung (s. Einleitung) zu bekommen.

IV. ERGEBNISSE

IV.1. Laborexperimente

IV.1.1. Analyse der Testparameter in Kontrollversuchen

Nachdem in den vorausgegangenen Abschnitten die Testbedingungen erläutert und einige wesentliche Fehlerquellen beschrieben worden sind, lassen sich nunmehr die Kontrollwerte der ausgewählten Testparameter zusammenstellen. Darunter sind alle diejenigen Ergebnisse zu verstehen, die

1. Aussagen liefern über die Anwendbarkeit der Testdauer von 48 h im Hinblick auf den zeitlichen Verlauf der O₂-Produktion und O₂-Zehrung.
2. ohne den Einfluß der Testchemikalie unter den gegebenen Bedingungen der Versuche bei einheitlicher Lichtstärke von 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ (Ausnahmen sind an entsprechenden Stellen angegeben) erzielt worden sind. Die ausgewählten Testparameter sind in Kap. II.1.1. vorgestellt worden.

Die Kontrollwerte der Versuche zur Lichtabhängigkeit der Xenobiotikawirkungen sind, soweit hier unter "Lichtstärkeversuche" nicht mit aufgenommen, in den betreffenden Kapiteln (vgl. Kap. IV.1.2.2. ff) gesondert dargestellt.

IV.1.1.1. Zeitlicher Verlauf der O₂-Produktion und O₂-Zehrung innerhalb der Testzeit von 48 h

In Abb. 11 ist der zeitliche Verlauf der O₂-Nettoproduktion aufgrund zweier getrennter Versuche (Tab. 3, s. Tabellenanhang) dargestellt. Der Kurvenverlauf läßt sich durch folgende Gleichung beschreiben:

$$y = 1,682 + 26,416 \ln x; R = 0,991; t_R = 27,47; N = 16$$
$$(t_{0,05(14)} = 2,14)$$

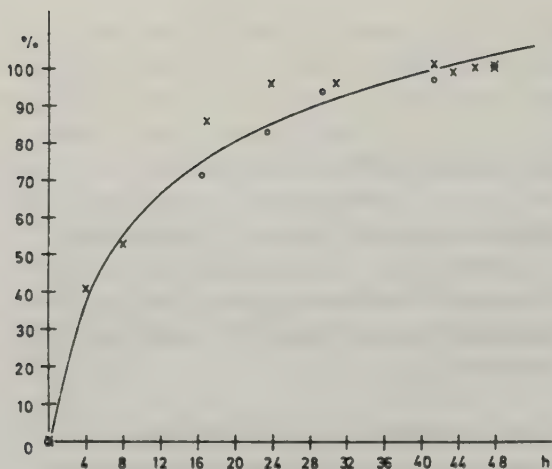


Abb. 11. Verlauf der relativen O₂-Nettoproduktion während der Testdauer von 48 h (Versuch I: x; Versuch II: o; s. Tabelle 3).

Die O₂-Zehrung wird einerseits in den Dunkel-Flaschen und andererseits in kurzzeitig (4 h) verdunkelten Hell-Flaschen (vgl. Kap. II.2.3.1.) durch jeweils zwei Versuche bestimmt.

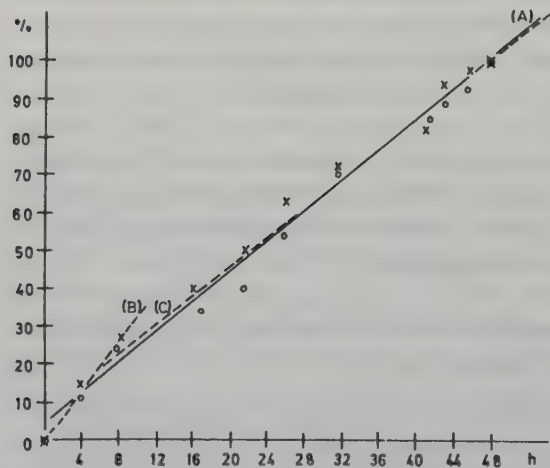


Abb. 12. Verlauf der relativen O₂-Zehrung in den Dunkel-Flaschen während der Testdauer von 48 h. Versuch I: x; Versuch II: o (s. Tabelle 4).

Abb. 12 zeigt den Verlauf der O₂-Zehrung von zwei getrennt angesetzten Versuchen mit Dunkel-Flaschen. Die Verteilung der Meßwerte deutet auf eine Änderung des Funktionsverlaufes nach 8 h Versuchsdauer. Die Regressionsanalyse liefert bei Zusammenfassung beider Versuche folgende Funktionen:

$$(A) \quad 0 - 48 \text{ h: } y = 4,128 + 2,008 x; R = 0,994; t_R = 40,34;$$

$$N = 22 \quad (t_{0,05(20)} = 2,09)$$

(B) 0 - 8 h: $y = 0,1967 + 3,095 x$; $R = 0,993$; $t_R = 16,50$;

$N = 6$ ($t_{0,05(4)} = 2,78$)

(C) 8 - 48 h: $y = 6,622 + 1,940 x$; $R = 0,990$; $t_R = 28,30$;

$N = 18$ ($t_{0,05(16)} = 2,12$)

Der t-Test weist auf einen signifikanten Unterschied der Steigungen zwischen den Funktionen (B) und (C), $t_b = 2,69$ ($t_{0,05(20)} = 2,09$) und (A) und (B), $t_b = 2,50$ ($t_{0,05(24)} = 2,06$) hin. Die Steigungen von (A) und (C) sind nicht signifikant voneinander verschieden, $t_b = 0,80$ ($t_{0,05(36)} = 2,03$). In den ersten 8 h ist also eine etwas erhöhte O₂-Zehrung zu beobachten. Im ganzen gesehen kann man jedoch von einem linearen Anstieg während der Versuchsdauer sprechen. Tabelle 4 enthält die Zehrungs-Absolutwerte der beiden Versuche.

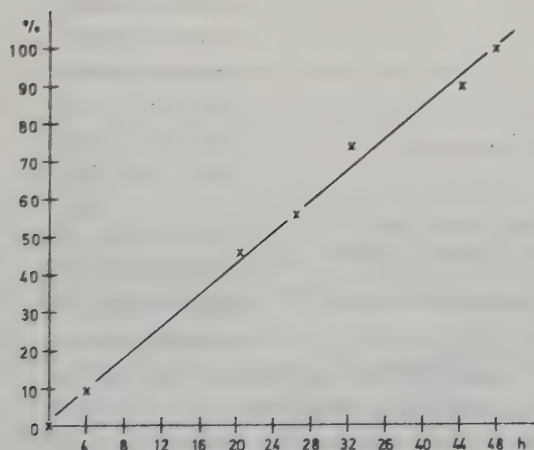


Abb. 13. Verlauf der relativen O₂-Zehrung, berechnet aus der O₂-Zehrung in den Hell-Flaschen während der 4-stündigen Verdunkelungsphasen (s. Text und Tabelle 5).

Einen Hinweis auf den möglichen zeitlichen Verlauf der O₂-Zehrung in den Hell-Flaschen (vgl. Kap. II.2.3.1.) gibt Abb. 13:

$$y = 1,773 + 2,062 x;$$

$$R = 0,997;$$

$$t_R = 30,25; N = 7$$

$$(t_{0,05(5)} = 2,57)$$

Der Vergleich der Steigung dieser Regressionsgeraden mit der Steigung der Gesamtfunktion (Abb. 12) aus den Dunkel-Flaschen-Versuchen mit Hilfe des t-Tests bringt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Steigungen der beiden Funktionen, $t_b = 0,58$ ($t_{0,05(25)} = 2,06$).

Ein Vergleich von Tab. 5 mit Tab. 4 zeigt, daß auch die absoluten O₂-Zehrungsmengen in den Verdunkelungszeiten der Hell-Flaschen mit den Mengen in den Dunkel-Flaschen gut übereinstimmen.

Die O₂-Bruttoproduktion wurde unter Berücksichtigung der O₂-Zehrung in den Dunkel-Flaschen bzw. in den Verdunkelungszeiten der Hell-Flaschen bestimmt:

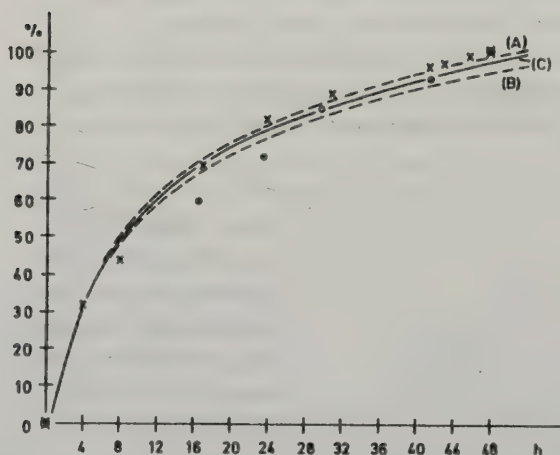


Abb. 14. Verlauf der relativen O₂-Bruttoproduktion unter Berücksichtigung der O₂-Zehrung in den Dunkel-Flaschen (A) und der O₂-Zehrung während der 4-stündigen Verdunkelungsphasen in den Hell-Flaschen (B) (s. Text).

Unter Berücksichtigung der Nettoproduktionswerte aus Tab. 3 Versuch I und des durchschnittlichen prozentualen O₂-Zehrungsverlaufs in den Dunkel-Flaschen (Abb. 12), unter Anwendung auf den 48 h-Wert aus Tab. 4 Versuch I (die Versuche erfolgten unmittelbar nacheinander mit vergleichbaren

Ausgangsalgenzellichten), resultiert die Funktion (A) der Abb. 14 (x-Werte) für die O₂-Bruttoproduktion:

$$(A) \quad y = -4,012 + 26,657 \ln x; \quad R = 0,996; \quad t_R = 32,44; \\ N = 10 \quad (t_{0,05(8)} = 2,31)$$

Beim Versuch zum zeitlichen Verlauf der O₂-Zehrung in den kurzzeitig verdunkelten Hell-Flaschen (Tab. 5) wurde auch die Nettoproduktion gemessen (Tab. 3 Versuch II) und aus beiden

Wertegruppen der Bruttoproduktionsverlauf bestimmt. Dieser Bruttoproduktionsverlauf ist durch Funktion (B) der Abb. 14 beschrieben (o-Werte):

$$(B) \ y = - 2,629 + 25,132 \ln x; \ R = 0,990; \ t_R = 14,19; \ N = 6$$

Diese beiden Funktionen (A und B, Abb. 14) zeigen keinen wesentlichen Unterschied ($t_b = 0,90$ ($t_{0,05(12)} = 2,18$)).

Es ist daher berechtigt, beide Funktionen durch eine gemeinsame Funktion (C) auszudrücken:

$$(C) \ y = 3,336 + 26,027 \ln x; \ R = 0,993; \ t_R = 30,56; \ N = 16$$

Im statistischen Vergleich dieser Funktion mit der Funktion der O₂-Nettoproduktion (Abb. 11) ergibt sich kein wesentlicher Unterschied ($t_b = 0,30$ ($t_{0,05(28)} = 2,05$)).

Die Ergebnisse dieser Versuche lauten kurz zusammengefaßt:

1. Die O₂-Nettoproduktion erreicht bereits nach 24 h Testdauer ca. 85 % der in 48 h feststellbaren Gesamt-Nettoproduktion.
2. Die O₂-Zehrung verläuft bei ständiger Dunkelheit und kurzzeitigem Abbdunkeln (4 h) der Hell-Flaschen ohne wesentliche Unterschiede und ist linear ansteigend zur Testzeit.
3. Die Testdauer von 48 h ist im Bezug auf den zeitlichen Verlauf der O₂-Nettoproduktion nicht ideal. Für eine genaue Messung der O₂-Zehrung ist sie unter den festgelegten Versuchsbedingungen jedoch unerlässlich.

Die weiteren Untersuchungen unter den beschriebenen Testbedingungen (vgl. Kap. II.2.3.1.) liefern nur noch die Endwerte der O₂-Produktion und O₂-Zehrung nach 48 h. Die Mittelwerte aus allen Kontrollversuchen sind im Folgenden zusammengestellt.

IV.1.1.2. Mittelwerte aus den Kontrollversuchen

IV.1.1.2.1. O₂-Produktion und O₂-Zehrung

Bei den Versuchsreihen mit einer einheitlichen Lichtstärke von 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ ergaben sich unter Berücksichtigung der in vorangegangenen Abschnitten erarbeiteten Korrekturwerte folgende Mittelwerte:

O₂-Nettoproduktion: $\bar{x} = 4,054 \text{ mg/l}$; $s_{\bar{x}} = 0,982$ (= 24,2%)

O₂-Zehrung: $\bar{x} = 1,995 \text{ mg/l}$; $s_{\bar{x}} = 0,670$ (= 33,6%)

O₂-Bruttoproduktion: $\bar{x} = 6,051 \text{ mg/l}$; $s_{\bar{x}} = 1,487$ (= 24,6%)

Jeweils N = 38.

Diese Werte setzen sich aus den Befunden zusammen, die sowohl bei Gleichgewichtsbedingungen als auch bei Ungleichgewichtsbedingungen des Chemostaten (instabiler Chemostatbetrieb, vgl. Kap. II.2.1.2.) ermittelt worden sind. Berücksichtigt man lediglich die Werte die innerhalb $\bar{x} \pm 2s$ liegen (nahezu alle Ergebnisse während instabilen Chemostatbetriebs fallen dadurch heraus), so erhält man folgende Größen:

O₂-Nettoproduktion: $\bar{x} = 3,796 \text{ mg/l}$; $s_{\bar{x}} = 0,646$ (= 17,0%)

O₂-Zehrung: $\bar{x} = 1,864 \text{ mg/l}$; $s_{\bar{x}} = 0,555$ (= 29,8%)

O₂-Bruttoproduktion: $\bar{x} = 5,680 \text{ mg/l}$; $s_{\bar{x}} = 1,048$ (= 18,5%)

Jeweils N = 34.

Das Verhältnis der einzelnen Parameter zueinander ist:

O₂-Nettoproduktion zu O₂-Zehrung: 2,0

O₂-Bruttoproduktion zu O₂-Zehrung: 3,0

O₂-Bruttoproduktion zu O₂-Nettoproduktion : 1,5

Unter Weglassen aller O₂-Bruttoproduktionswerte die durch Algenproben während instabilen Chemostatbetriebs entstanden sind, aber zum Teil innerhalb $\pm 2s$ liegen, ist die durchschnittliche O₂-Bruttoproduktion: $\bar{x}_{30} = 5,809 \text{ mg/l}$; $s_{\bar{x}} = 0,703$ (= 12,1%).

IV.1.1.2.2. Wachstumsrate

**Mittlere Wachstumsrate, bestimmt durch die Zelldichte-
veränderung:**

Hell-Flaschen: $r = 2,44 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $s_r = 0,64 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$
(= 26 %), $N = 27$;

ohne Test bei instabilem Chemostatbetrieb:

$r = 2,68 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $s_r = 0,32 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$
(= 12 %), $N = 22$.

Dunkel-Flaschen: $r = 0,95 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $s_r = 0,27 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$
(= 28 %), $N = 7$.

Mittlere Ausgangszelldichte:

Bei 66 ausgezählten WINKLER-Flaschen, Versuche bei
150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ und "Lichtstärkeversuche":

$N_0 = 50,99 \times 10^3/\text{ml}$, $s_{N0} = 13,22 \times 10^3/\text{ml}$ (= 26 %);

ohne Tests bei instabilem Chemostatbetrieb:

$N_0 = 50,94 \times 10^3/\text{ml}$, $s_{N0} = 7,52 \times 10^3/\text{ml}$
(= 15 %), $N = 52$.

Mittlere Endzelldichte:

Hell-Flaschen: $N_t = 160,92 \times 10^3/\text{ml}$, $s_{Nt} = 52,14 \times 10^3/\text{ml}$
(= 32 %), $N = 28$;

ohne Tests bei instabilem Chemostatbetrieb:

$N_t = 181,13 \times 10^3/\text{ml}$, $s_{Nt} = 37,53 \times 10^3/\text{ml}$ (= 21 %),
 $N = 22$.

Dunkel-Flaschen: $N_t = 90,73 \times 10^3/\text{ml}$, $s_{Nt} = 20,36 \times 10^3/\text{ml}$
(= 20 %), $N = 7$.

Mittlere Wachstumsrate, bezogen auf die Konzentration von aktivem Chlorophyll a:

Hell-Flaschen: $r = 1,79 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, $s_r = 0,75 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$
(= 42 %), $N = 27$;

ohne Tests bei instabilem Chemostatbetrieb:

$$r = 1,82 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}, s_r = 0,59 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1} \\ (= 32 \%), N = 22.$$

Dunkel-Flaschen: $r = 1,49 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}, s_r = 0,30 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$
(= 20 %), $N = 7$.

Mittlere Ausgangskonzentration an aktivem Chlorophyll a ($\mu\text{g/l}$):

Bei 65 ausgewerteten WINKLER-Flaschen, Versuche bei
150 $\mu\text{E/m}^2\text{sec}$ und "Lichtstärkeversuche":

$$N_0 = 55,05, s_{N_0} = 21,60 (= 39 \%);$$

ohne Tests bei instabilem Chemostatbetrieb:

$$N_0 = 54,20, s_{N_0} = 11,96 (= 22 \%), N = 51.$$

Mittlere Endkonzentration an aktivem Chlorophyll a ($\mu\text{g/l}$):

Hell-Flaschen: $N_t = 138,69, s_{N_t} = 44,72 (= 32 \%), N = 26;$

ohne Tests bei instabilem Chemostatbetrieb:

$$N_t = 134,74, s_{N_t} = 27,29 (= 20 \%), N = 21.$$

Dunkel-Flaschen: $N_t = 140,66, s_{N_t} = 13,77 (= 10 \%), N = 7.$

Mittlere Wachstumsrate, bezogen auf Chlorophyll-Fluoreszenz:

Hell-Flaschen: $r = 1,14 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}, s_r = 0,29 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$
(= 25 %), $N = 7.$

Dunkel-Flaschen: $r = 1,25 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}, s_r = 0,22 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$
(= 17 %), $N = 7.$

Mittlere Ausgangs-Chlorophyll-Fluoreszenz (Meßeinheiten):

Bei 25 ausgewerteten WINKLER-Flaschen, Versuche bei
150 $\mu\text{E/m}^2\text{sec}$ und "Lichtstärkeversuche":

$$N_0 = 235,94, s_{N_0} = 40,44 (= 17 \%);$$

ohne Tests bei instabilem Chemostatbetrieb:

$$N_0 = 239,54, s_{N_0} = 26,66 (= 11 \%).$$

Mittlere End-Chlorophyll-Fluoreszenz (Meßeinheiten):

Hell-Flaschen: $N_t = 457,54$, $s_{N_t} = 93,63$ (= 20 %), $N = 7$.

Dunkel-Flaschen: $N_t = 480,61$, $s_{N_t} = 76,85$ (= 16 %), $N = 7$.

IV.1.1.2.3. pH

Der durchschnittliche Ausgangs-pH-Wert, gemessen bei 7 voneinander unabhängig angesetzten Test:

$$\bar{x}_{pH} = 6,56, s_{\bar{x}} = 0,08 \text{ (= 1,2 \%)}.$$

Nach 48 h Testdauer erhöhte sich dieser Wert in den Hell-Flaschen auf:

$$\bar{x}_{pH} = 9,30, s_{\bar{x}} = 0,06 \text{ (= 0,7 \%)}.$$

d.h. um durchschnittlich 2,74 pH-Stufen.

Nach 48 h Testdauer verringerte sich der Ausgangs-pH-Wert in den Dunkel-Flaschen auf:

$$\bar{x}_{pH} = 6,09, s_{\bar{x}} = 0,06 \text{ (= 1,0 \%)}.$$

IV.1.2. Analyse der Testsubstanzen im ökotoxikologischen Versuch

IV.1.2.1. Untersuchungen bei einheitlicher Lichtstärke von $150 \mu E/m^2 sec$

IV.1.2.1.1. Atrazin (0,05 - 1,0 ppm)

IV.1.2.1.1.A. O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung

Den Einfluß des Atrazins im Konzentrationsbereich von 0,05 - 1,0 ppm auf die O_2 -Nettoproduktion zeigt Abb. 15.

t-Tests über die Verschiedenheit der %-Werte bei 0,05 ppm und 0,1 ppm von Null ergeben, daß diese nicht signifikant von Null verschieden sind (0,05 ppm: $t_{für 0} = 3,0$; 0,1 ppm: $t_{für 0} = 3,48$

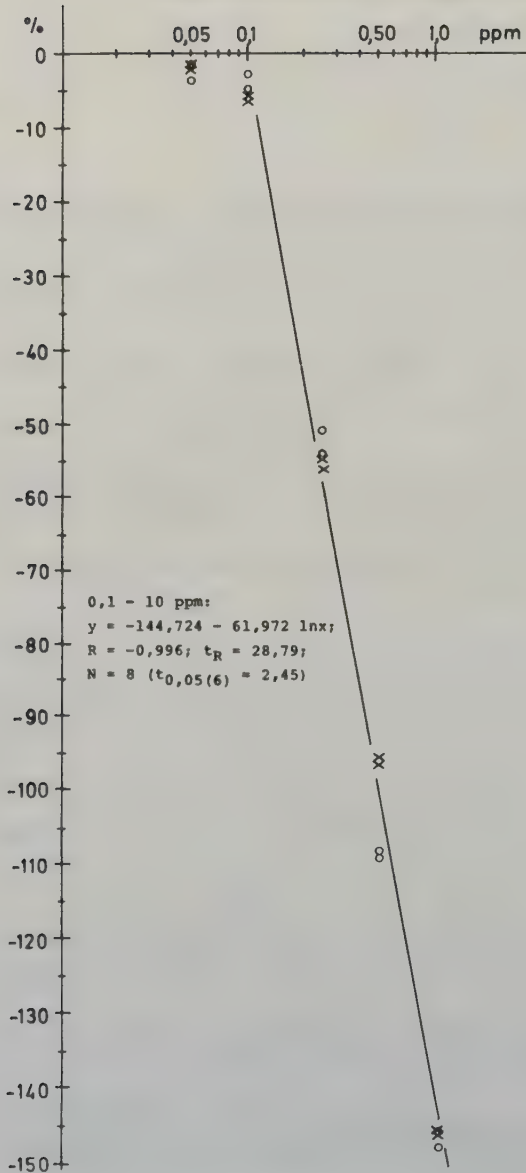


Abb.15. Prozentuale Veränderung der O₂-Nettoproduktion unter Atrazineinfluß bei 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$.

($t_{0,05(1)} = 12,7$)). Außerdem sind die Mittelwerte der beiden Zahlengruppen untereinander ebenfalls nicht signifikant verschieden ($t_{\bar{x}} = 2,85$ ($t_{0,05(2)} = 4,30$)). Bei Konzentrationen von 0,1 ppm und darunter ist somit keine signifikante Hemmung der O_2 -Nettoproduktion zu verzeichnen. Darüber zeigt sich jedoch eine drastische Hemmung mit logarithmischer Zunahme der Konzentration:

1,0 ppm führt bereits zu einer Abnahme um 145 % d.h. es wird weit mehr O_2 veratmet als produziert.

Die O_2 -Zehrung (Abb. 16) unterliegt keinem nachweisbaren Einfluß durch Atrazin:

$$y = - 2,125 - 1,784 x; R = - 0,13; t_R = 0,64; N = 25$$

$$(t_{0,05(23)} = 2,07)$$

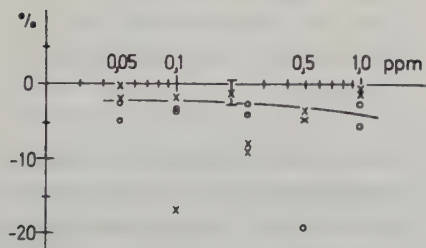


Abb.16. Prozentuale Veränderung der O_2 -Zehrung unter Atrazineinfluß in Dunkel-Flaschen.

Da aus dem Test mit 0,2 ppm unter verschiedenen Lichtstärken viele Zehrungswerte angefallen sind, ist in Abb. 16 bei dieser Konzentration der Mittelwert aus 15 Einzelwerten (aus je 2 O_2 -Zehrungs-Parallelflaschen) mit der Standardabweichung eingetragen.

Es liegen zwar alle Meßwerte im Hemmungsbereich, der t-Test für die Unterscheidung dieser Werte von Null ergibt jedoch keinen signifikanten Unterschied zu Null:

$$t_{\text{für } 0} = 0,80 \quad (t_{0,05(24)} = 2,06).$$

Abb. 17 gibt den Hemmungsverlauf der O_2 -Bruttoproduktion wieder. Nach dem gleichen Verfahren wie bei der O_2 -Nettoproduktion ergeben sich bei 0,05 ppm und 0,1 ppm folgende t-Werte: 0,05 ppm: $t_{\text{für } 0} = 28,07$; 0,1 ppm : $t_{\text{für } 0} = 2,11$ ($t_{0,05(1)} = 12,7$)

$$0,05 \text{ ppm gegen } 0,1 \text{ ppm: } t_x = 1,88 \quad (t_{0,05(2)} = 4,30)$$

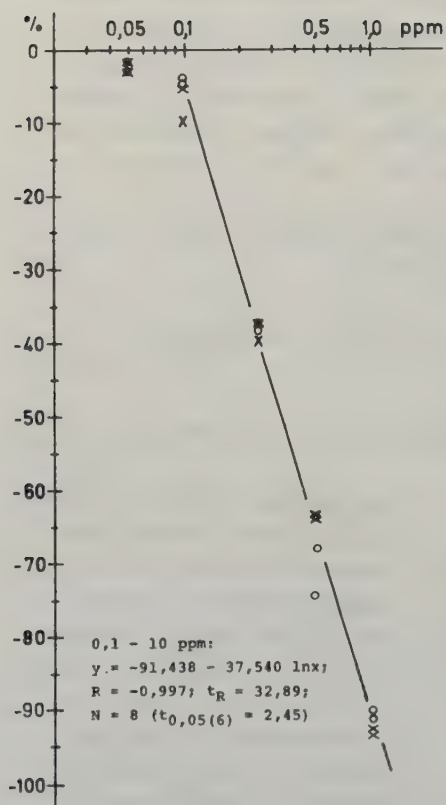


Abb.17. Prozentuale Veränderung der berechneten O₂-Bruttoproduktion unter Atrazineinfluß bei 150 µE/m²sec.

Hemmung um ca. 145 % bzw. ca. 90 %. Die O₂-Zehrung im Dunkeln wird nicht nachweisbar verändert.

Rechnerisch unterscheiden sich die %-Werte bei 0,05 ppm zwar signifikant von Null, da sich aber die %-Werte bei 0,1 ppm nicht signifikant von Null unterscheiden und die Mittelwerte der beiden %-Wertegruppen sich nicht signifikant voneinander unterscheiden, ist eine Hemmwirkung von Atrazin erst über 0,1 ppm abzuschätzen. Diese Hemmung führt mit logarithmischer Zunahme der Konzentration zu einem Wert von ca. 90% bei 1,0 ppm.

Die O₂-Nettoproduktion und die berechnete O₂-Bruttoproduktion werden durch Atrazinkonzentrationen über 0,1 ppm mit logarithmisch zunehmender Konzentration zunehmend gehemmt. 1,0 ppm verursachen eine

Die Ermittlung der Wachstumsrate und evtl. Veränderungen des Zellchlorophyllgehaltes (folgende Abschnitte) sollen zeigen, ob diese Produktionshemmung ausschließlich auf Beeinflussung der Photosynthese beruht, und ob es im Dunkeln - trotz nicht signifikant beeinflusster O₂-Zehrung - Atrazineinflüsse auf diese Parameter gibt.

IV.1.2.1.1.B. Wachstumsrate

a) Zelldichte

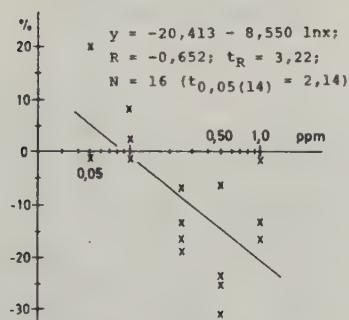


Abb.18. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch Atrazin bei 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, ermittelt durch Zelldichtebestimmung.

Ein hemmender Einfluß des Atrazins auf die Zellwachstumsrate bei Lichteinwirkung (Abb. 18) ist erst ab 0,25 ppm nachweisbar.

Im Konzentrationsbereich von 0,25 - 1,0 ppm scheint die Hemmung bei Werten um 20 % kaum von der Konzentrationszunahme beeinflusst zu sein.

Im Dunkeln war unter 1,0 ppm Atrazin kein Einfluß auf die Zell-Wachstumsrate nachzuweisen. Erst bei 1,0 ppm weisen weit auseinanderliegenden Meßwerte (-28 % und -93 %) auf eine Hemmung hin.

b) Aktives Chlorophyll a

Benutzt man die Konzentrationen an aktivem Chlorophyll a zur Berechnung der Wachstumsparameter in den Hell-Flaschen, so ist der Kurvenverlauf (Abb. 19) dem der Veränderung der Zell-Wachstumsraten (Abb. 18) sehr ähnlich. Die Regressionsfunktion (Abb. 19) schneidet auch hier bei ca. 0,1 ppm Atrazin die x-Achse:

$$(A) \quad y = -23,298 - 10,575 \ln x; \quad R = -0,530; \quad t_R = 2,34; \\ N = 16$$

Obwohl der Korrelationskoeffizient sehr niedrig ist, ist er noch signifikant von Null verschieden, d.h. eine konzentrationsabhängige Hemmung ist sehr wahrscheinlich. Spart man bei der Funktionsberechnung den in Klammern gesetzten Meßwert als wahrscheinlichen Ausreißer aus, erhöht sich der Korrelationskoeffizient geringfügig:

$$(B) \ y = -16,835 - 8,299 \ln x; \ R = -0,623; \ t_R = 2,87; \\ N = 15 \ (t_{0,05}(13) = 2,16)$$

Die maximale Hemmung liegt, wie bei der Zell-Wachstumsrate, bei etwa 20 %.

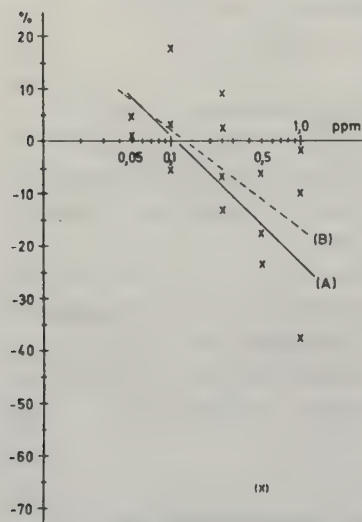


Abb. 19. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch Atrazin bei 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, ermittelt durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a (s.Text).

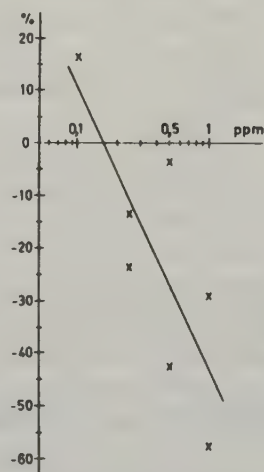


Abb. 20. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch Atrazin im Dunkeln, ermittelt durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a.

In den Dunkel-Flaschen ist eine sehr deutliche Hemmung der Chlorophyll a-Zunahme zu verzeichnen (Abb. 20):

$$y = -43,226 - 23,227 \ln x; \ R = -0,785; \ t_R = 2,83; \ N = 7 \\ (t_{0,05}(5) = 2,57)$$

c) Chlorophyll-Fluoreszenz

Auch bei Anwendung dieser Methode ergibt sich für die Hell-Flaschen (Abb. 21):

$$y = -96,407 - 35,519 \ln x; \ R = -0,784; \ t_R = 2,82; \ N = 7 \\ (t_{0,05}(5) = 2,57)$$

Dem Verlauf der Regressionsfunktion entsprechend tritt 100 %ige Hemmung bereits bei etwa 1,0 ppm Atrazin ein.

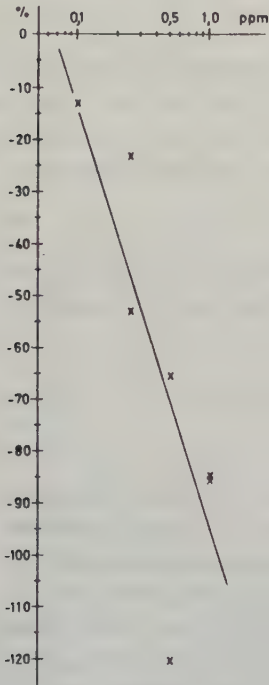


Abb. 21. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch Atrazin bei $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, ermittelt durch Chlorophyll-Fluoreszenzmessung.

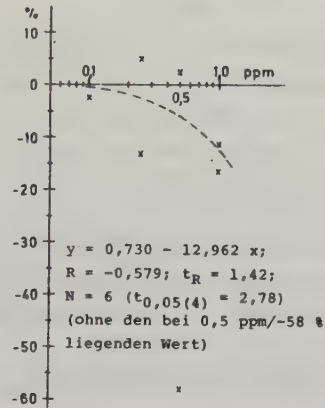


Abb. 22. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch Atrazin im Dunkeln, ermittelt durch Chlorophyll-Fluoreszenzmessung.

Die Zunahme der Chlorophyll-Fluoreszenz in den Dunkel-Flaschen (Abb. 22) ist nicht eindeutig gehemmt.

Von einer Hemmung läßt sich, wenn überhaupt, nur bei 1,0 ppm sprechen. Sie liegt in einem Bereich von 10 - 20 %.

d) Zusammenfassung der Ergebnisse (a-c):

Die Ergebnisse über die Wachstumsraten aus Zelldichte- und aktivem Chlorophyll-a-Bestimmung stimmen im wesentlichen überein: Im Licht kommt es zu einer Hemmung durch 0,25 ppm - 1,0 ppm Atrazin von durchschnittlich 20 %. Im Dunkeln liegt

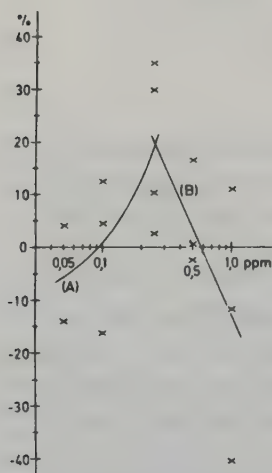
die Hemmung durchschnittlich bei ca. 45 bzw. 65 % durch 1,0 ppm, die Meßwerte bei niedrigeren Konzentrationen sind nicht aussagekräftig.

Die Ergebnisse der Chlorophyll-Fluoreszenzmessung fallen aus dem Rahmen: Im Licht steigt die Hemmung ab 0,1 ppm mit logarithmischer Konzentrationszunahme auf ca. 96 % bei 1,0 ppm, im Dunkeln dagegen ist nur durch 1,0 ppm eine leichte Hemmung (10 - 20 %) erkennbar.

Inwieweit diese Ergebnisse auf Veränderungen des Zellchlorophyllgehaltes zurückzuführen sind, soll aus den Ergebnissen des folgenden Kapitels hervorgehen.

IV.1.2.1.1.C. Chlorophyllgehalt der Algenzellen

a) Aktives Chlorophyll a:



Die prozentualen Differenzen des Chlorophyllgehaltes pro Zelle bei Testende in den Hell-Flaschen unter dem Einfluß verschiedener Atrazinkonzentrationen sind in Abb. 23 eingetragen. Die diffuse Streuung der Meßwerte macht eine eindeutige Aussage sehr schwer. Dem Resultat am nächsten kommt evtl. eine Zweiteilung der Gesamtfunktion:

(A) 0,05 - 0,25 ppm:

$$y = -11,708 + 124,339 x;$$

$$R = 0,664; t_R = 2,35; N = 9$$

$$(t_{0,05(7)} = 2,36)$$

(B) 0,25 - 1,0 ppm:

$$y = -13,007 - 23,788 \ln x;$$

$$R = -0,674; t_R = 2,58;$$

$$N = 10 (t_{0,05(8)} = 2,31)$$

Abb. 23. Prozentuale Differenz des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a pro Zelle zwischen den Algen aus den Hell-Flaschen mit und ohne Atrazin bei Testende.

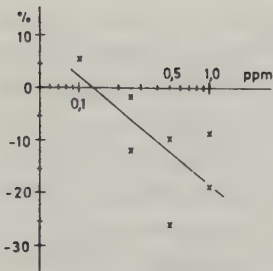


Abb. 24. Prozentuale Differenz des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a pro Zelle zwischen den Algen aus den Dunkel-Flaschen mit und ohne Atrazin bei Testende.

Die Signifikanz des Korrelationskoeffizienten der Funktion (B) basiert hauptsächlich auf dem Tiefstwert (- 40,0 %) bei 1,0 ppm, der aber auch ein Ausreißer sein kann. Im großen und ganzen ist die Ergebnisdarstellung in dieser Art nicht befriedigend.

Der Chlorophyllgehalt der Zellen bei Versuchsende in den Dunkel-Flaschen scheint bei Betrachtung der Meßpunkte bei Atrazinkonzentrationen ab 0,25 ppm Atrazin vermindert zu sein (Abb. 24).

Die Regressionsanalyse führt jedoch zu einer Funktion mit zu niedrigem, nicht signifikantem Korrelationskoeffizienten:

$$y = - 18,108 - 8,737 \ln x; R = - 0,674; t_R = 2,04; N = 7$$

$$(t_{0,05}(5) = 2,57)$$

b) Chlorophyll-Fluoreszenz:

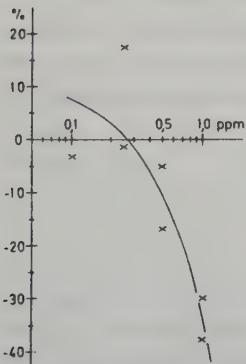


Abb. 25. Prozentuale Differenz der Chlorophyll-Fluoreszenz pro Zelle zwischen den Algen aus den Hell-Flaschen mit und ohne Atrazin bei Testende.

Die Auswertung der Chlorophyll-Fluoreszenzwerte in den Hell-Flaschen ergibt ein deutlicheres Bild (Abb. 25). Atrazinkonzentrationen über 0,25 ppm führen auf jeden Fall zu einem geringeren Chlorophyllgehalt der Zellen bei Versuchsende.

$$\text{Abb. 25: } y = 12,332 - 45,423 x;$$

$$R = - 0,874; t_R = 4,02;$$

$$N = 7 (t_{0,05}(5) = 2,57)$$

Für die Dunkel-Flaschen war keine konzentrationsabhängige Veränderung des Chlorophyllgehaltes der Zellen nachzuweisen.

c) Zusammenfassung der Ergebnisse (a und b):

Die wichtigsten Aussagen lassen sich kurz zusammenfassen: Die Ergebnisse beider Bestimmungsmethoden deuten auf einen etwas erhöhten Chlorophyllgehalt (bis ca. 20 %) bei Testende durch 0,25 ppm Atrazin unter Lichteinwirkung hin; eine präzise %-Angabe ist nicht möglich. Bei Verwendung von 1,0 ppm führt die Fluoreszenzmessung zur Aussage, daß der Chlorophyllgehalt bei Testende gegenüber der Kontrolle um 30 - 40 % reduziert ist; die Bestimmung von aktivem Chlorophyll a führt zu keinem eindeutigen Ergebnis. Bei Lichtausschluß wird, ermittelt durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a, der Chlorophyllgehalt bei Testende durch 0,5 - 1,0 ppm um durchschnittlich 15 - 20 % gegenüber den Kontrollen reduziert; durch Fluoreszenzmessung wurden keine wesentlichen Veränderungen festgestellt.

Die Schlußfolgerungen auf die Ergebnisse der Wachstumsratenbestimmung werden im Kap. IV.1.2.1.5. beschrieben.

IV.1.2.1.1.D. pH

Zur Beschreibung der Versuchsbedingungen für *Ch. fusca* gehört die pH-Messung. Sie liefert außerdem zusätzliche Informationen zu den bisher aufgeführten Untersuchungsergebnissen über den O₂-, CO₂-Austausch und damit der O₂-Produktion und O₂-Zehrung.

a) Bei Lichteinwirkung:

Tab. a:

	ppm	0,1	0,25	0,25	0,5	0,5	1,0	1,0
1	pH _{0R}	6,54	6,48	6,55 ⁽¹⁾	6,55 ⁽¹⁾	6,50	6,62	6,70
	pH _{tR}	9,25	9,28	9,26 ⁽¹⁾	9,26 ⁽¹⁾	9,29	9,28	9,43
2	pH _{0S}	6,43	6,45	6,44	6,38	6,46	6,59	6,70
	pH _{tS}	9,13	7,10	6,63	6,28	6,28	6,03	6,17

Dieser Tabelle sind die pH-Werte der Atrazin-Tests zu entnehmen. Spalte 1 enthält die pH-Werte der Sofort-Flaschen (pH_{0R}) und Hell-Flaschen bei Versuchsende (t_R) ohne Testchemikalie. Spalte 2 enthält die pH-Werte der Ausgangssituation mit entsprechender Chemikalienkonzentration (pH_{0S}) und der Hell-Flaschen mit Chemikalie bei Versuchsende (t_S).

Mittelwert von $pH_{0R} = 6,57$; $s = 0,08$; $N = 6$.

Mittelwert von $pH_{tR} = 9,30$; $s = 0,07$; $N = 6$.

Mittelwert von $pH_{0S} = 6,49$; $s = 0,11$; $N = 7$.

(Die mit (1) bezeichneten Werte, Spalte 1, entstammen jeweils einer einzigen Sofort- und Hell-Flasche, da innerhalb eines Versuchsansatzes zwei Atrazinkonzentrationen getestet wurden. Sie sind nur als je ein Wert in die Mittelwertberechnungen eingegangen.)

Die Mittelwerte von pH_{0R} und pH_{0S} sind nicht signifikant voneinander verschieden ($t_{\bar{x}} = 1,27$; $t_{0,05(11)} = 2,20$).

Unter dem Einfluß steigender Atrazinkonzentrationen wird die pH-Zunahme in den Hell-Flaschen immer geringer, ab 0,5 ppm nimmt der pH-Wert sogar ab.

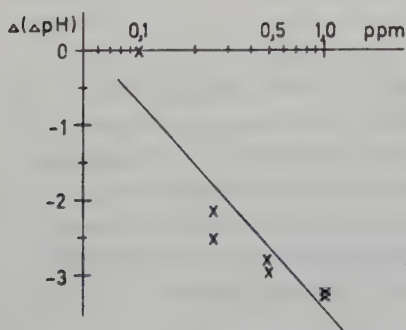


Abb.26. Absolute Differenz der pH-Veränderung während der Testdauer zwischen Proben mit und ohne Atrazin bei $150 \mu E/m^2 sec$.

In Abb. 26 sind die absoluten Differenzen der pH-Veränderungen eingetragen. Die Regressionsanalyse ergibt:

$$y = - 3,564 - 1,239 \ln x;$$

$$R = - 0,909; t_R = 4,88; N = 7$$

$$(t_{0,05(5)} = 2,57)$$

Der hohe, signifikante Korrelationskoeffizient beschreibt eindeutig den Atrazin-Einfluß auf die pH-Veränderungen.

b) Ohne Lichteinwirkung:

Tab. b:

	ppm	0,1	0,25	0,25	0,5	0,5	1,0	1,0
1	pH _{0R}	6,54	6,48	6,55 ⁽¹⁾	6,55 ⁽¹⁾	6,50	6,62	6,70
	pH _{tR}	6,02	5,98	6,11 ⁽¹⁾	6,11 ⁽¹⁾	6,14	6,09	6,15
2	pH _{0S}	6,43	6,45	6,44	6,38	6,46	6,59	6,70
	pH _{tS}	6,03	5,99	6,11	6,09	6,14	6,10	6,24

Spalte 1 enthält die pH-Werte der Sofort-Flaschen (0_R) (die selben Flaschen wie Tabelle a) und der Dunkel-Flaschen bei Versuchsende (t_R) ohne Testchemikalien.

Spalte 2 enthält die pH-Werte der Sofort-Flaschen mit entsprechenden Chemikalienkonzentrationen (0_S) (die selben Flaschen wie in Tabelle a) und der Dunkel-Flaschen mit Chemikalien bei Versuchsende (t_S).

Mittelwert von pH_{tR} = 6,08; s = 0,07; N = 6 (s. (1) analog Mittelwerte aus Tabelle a).

Mittelwert von pH_{0R} und pH_{0S} s. Tabelle a.

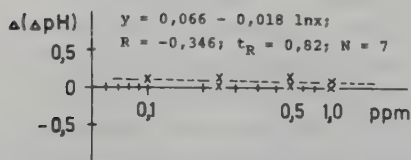


Abb. 27. Absolute Differenz der pH-Veränderung während der Testdauer zwischen Proben mit und ohne Atrazin im Dunkeln.

Abb. 27 (nach dem selben Modus wie Abb. 26 errechnet) zeigt, daß kein nachweisbarer konzentrationsabhängiger Einfluß von Atrazin auf die pH-Veränderungen in den Dunkel-Flaschen besteht.

Der Mittelwert der Differenz der pH-Veränderungen beträgt 0,083 (s = 0,043); Null ist nicht signifikant von den Ein-

zelwerten verschieden, $t_0 = 1,94$ ($t_{0,05(5)} = 2,57$), d.h. der durchweg positiven Differenz kann keine Bedeutung zuerkannt werden.

c) Zusammenfassung der Ergebnisse (a und b):

Unter Lichteinwirkung besteht bei Zugabe von 0,1 ppm Atrazin keine Differenz im pH-Anstieg zu den Kontrollen. Mit zunehmender Atrazinkonzentration wird der pH-Anstieg geringer. Unter dem Einfluß von 0,5 ppm bleibt der Ausgangs-pH-Wert über 48 h praktisch unverändert. 1,0 ppm führen dazu, daß sich die pH-Veränderungen unter Lichteinwirkung nur noch unwesentlich von denen ohne Lichteinwirkung unterscheiden. Die pH-Wertabnahme ist im Dunkeln völlig unabhängig von der Atrazinzugabe.

Inwieweit sich diese Ergebnisse mit jenen der O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung decken wird im folgenden Abschnitt erläutert.

IV.1.2.1.1.E. Schlußfolgerungen

Die durch unterschiedliche Methoden etwas unterschiedlich ausgefallenen Ergebnisse über die Beeinflussung der Wachstumsraten lassen sich durch Einbeziehung der Ergebnisse über die Veränderungen des Zellchlorophyllgehaltes weitgehend erklären. Berücksichtigt man diese Veränderungen, so stimmen die Ergebnisse über die Wachstumsratenveränderungen in ihrer prinzipiellen Aussage überein. Auch die durch Fluoreszenzmessung ermittelte starke Hemmung der Wachstumsrate im Licht fügt sich bei Betrachtung der durch diese Methode ermittelten Reduzierung des Zellchlorophyllgehaltes in das Gesamtbild ein. Die Wachstumsraten werden zwischen 0,25 ppm und 1,0 ppm Atrazin bei Lichteinwirkung um ca. 20 % (mit großer Wertestreuung) reduziert; im Dunkeln ist ab 0,25 ppm eine geringere Hemmung (kleiner als im Licht) wahrscheinlich, aber nicht nachgewiesen.

Die Veränderungen der Wachstumsrate bei Lichteinwirkung sind gegenüber der drastischen Hemmung der O_2 -Produktion nahezu unbedeutend. Die geringe Hemmung der Wachstumsraten im Dunkeln

sind eine Erklärung für die stets im Hemmungsbereich verlaufende Funktion der prozentualen Änderung der O_2 -Zehrung.

Die sich im Licht durch Erhöhung der Atrazindosen ständig den Verhältnissen in den Dunkel-Flaschen annähernden pH-Verhältnisse bestätigen die Einstellung der O_2 -Produktion und des CO_2 -Verbrauches bzw. die Aufrechterhaltung der CO_2 -Produktion.

Die Berechnung der Hemmung der O_2 -Bruttoproduktion setzt voraus, daß die O_2 -Zehrung durch Atrazin unter Lichteinwirkung nicht verstärkt beeinflußt wird. Eine einfache Überlegung schränkt in diesem Fall eine solche Möglichkeit ein. Das Mengenverhältnis von O_2 -Nettoproduktion zu O_2 -Zehrung ist im Kontrollversuch 2:1 (vgl. Kap. IV.1.1.2.1.). Die gemessene Hemmung der O_2 -Nettoproduktion von ca. 145 % durch 1,0 ppm ist nur dann möglich, wenn die O_2 -Zehrung auch im Licht nicht wesentlich beeinträchtigt wird. Nur eine Förderung der O_2 -Zehrung durch Atrazin im Licht kann das Ausmaß der berechneten O_2 -Bruttoproduktionshemmung in Frage stellen. Bisher bekannte Daten über die physiologische Wirkungsweise des Atrazins und auch die hier gemessenen Parameter geben keinen Hinweis darauf.

Atrazin beginnt ab 0,1 ppm die O_2 -Produktion bis zur annähernden Einstellung bei 1,0 ppm zu hemmen; die Atmung im Dunkeln bleibt im wesentlichen unbeeinflußt; die festgestellten Wirkungen auf die Wachstumsraten spielen dabei nur eine untergeordnete Rolle.

IV.1.2.1.2. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (0,1 - 10 ppm)

IV.1.2.1.2.A. O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung

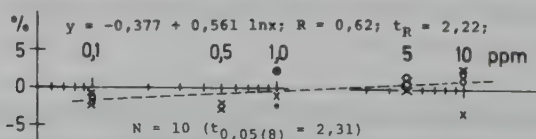


Abb.28. Prozentuale Veränderung der O_2 -Nettoproduktion unter 2,4-D-Einfluß bei $150 \mu E/m^2 sec$ (zu $\bullet$ und $\times$ bei 1,0 ppm jeweils kein Parallelwert).

Die O₂-Nettoproduktion wird durch 0,1 - 10 ppm 2,4-D nicht nachweisbar beeinflusst (Abb. 28).

Ganz so wirkungslos wie dieses Bild glauben läßt, ist 2,4-D jedoch nicht, was die Aufteilung in O₂-Zehrung und O₂-Bruttoproduktion beweist (Abb. 29 und 30).

Die O₂-Zehrung im Dunkeln (Abb. 29) nimmt mit logarithmisch zunehmender Konzentration ab:

$$y = -14,147 - 6,099 \ln x; R = -0,940; t_R = 7,79; N = 10$$

$$(t_{0,05}(8) = 2,31)$$

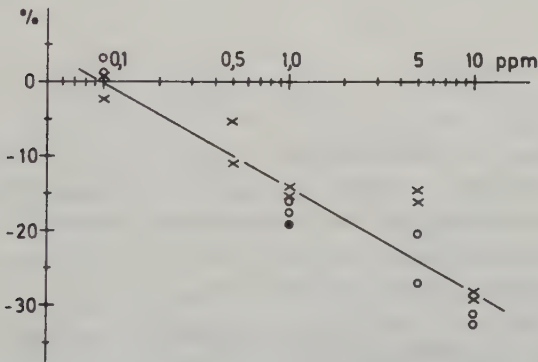


Abb. 29. Prozentuale Veränderung der O₂-Zehrung unter 2,4-D-Einfluß in Dunkel-Flaschen (zu • bei 1,0 ppm kein Parallelwert).

Mit logarithmisch zunehmender Konzentration steigt die Hemmung der berechneten O₂-Bruttoproduktion langsam an (Abb. 30). Der

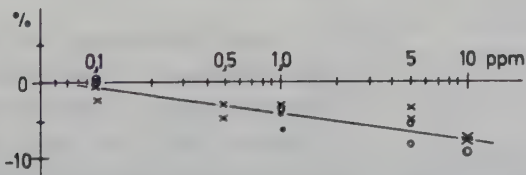


Abb. 30. Prozentuale Veränderung der berechneten O₂-Bruttoproduktion unter 2,4-D-Einfluß bei 150 µE/m²sec (o bei 10 ppm deckungsgleich, zu o bei 1,0 ppm kein Parallelwert).

Kurvenverlauf ist zwar flach, aber die Abhängigkeit der Hemmung von der Konzentration ist hoch:

$$y = -4,215 - 1,537 \ln x; R = -0,912; t_R = 6,29; N = 10$$

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die O₂-Nettoproduktion durch 2,4-D-Konzentrationen bis 10 ppm unbeeinflusst bleibt. Die O₂-Zehrung im Dunkeln nimmt ab 0,1 ppm mit logarithmisch zunehmender Konzentration bis zu ca. 30 % bei 10 ppm ab. Unter der Annahme, daß dies ebenso bei Lichteinwirkung stattfindet, ergibt sich eine ab 0,1 ppm ebenfalls mit logarithmischer Konzentrationszunahme bis um ca. 8 % abnehmende O₂-Bruttoproduktion.

IV.1.2.1.2.B. Wachstumsrate

a) Zelldichte:

Auf die Wachstumsrate war kein Einfluß durch 2,4-D in den Hell-Flaschen nachweisbar, ebenso im Dunkeln bis 5 ppm. Erst bei 10 ppm wurden 2 Hemmwerte von 72 % und 93 % bestimmt.

b) Aktives Chlorophyll a:

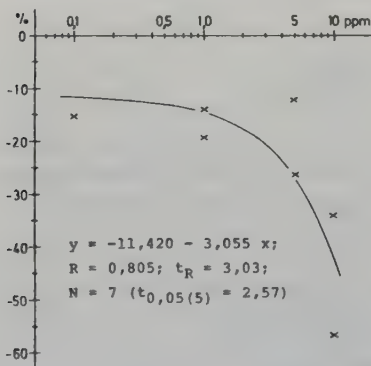


Abb. 31. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch 2,4-D im Dunkeln, ermittelt durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a.

Eine signifikante, von der 2,4-D-Konzentration abhängige Beeinflussung der durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a ermittelten Wachstumsrate in den Hell-Flaschen war nicht abzusichern.

Die durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a ermittelte Wachstumsrate in den Dunkel-Flaschen (Abb. 31) liegt durchweg im Hemmungsbereich, wobei erst bei 10 ppm eine zunehmend hemmende Wirkung eintritt.

c) Chlorophyll-Fluoreszenz:

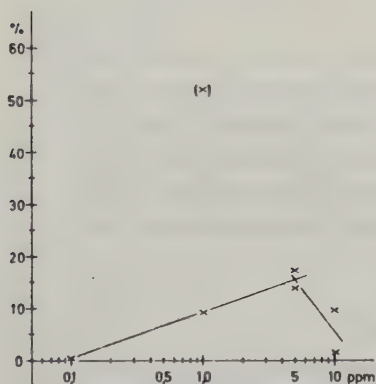


Abb. 32. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch 2,4-D bei 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, ermittelt durch Chlorophyll-Fluoreszenzmessung (s. Text).

Die Meßwerte in Abb. 32 liegen auf dem ersten Blick sehr willkürlich verteilt. Betrachtet man jedoch den in Klammern gesetzten Wert als Ausreißer, ergibt sich ein Bild, das eine Aufteilung in zwei Teilfunktionen verlangt:

0,1 - 5 ppm (A):

$$y = 9,352 + 3,810 \ln x;$$

$$R = 0,981; t_R = 7,18; N = 4$$

$$(t_{0,05}(2) = 4,30)$$

5 - 10 ppm (B):

$$y = 38,371 - 14,211 \ln x;$$

$$R = 0,841; t_R = 2,20; N = 4$$

Die Funktion (A) beschreibt eine zunehmend fördernde Wirkung auf die durch Chlorophyll-Fluoreszenzmessung bestimmte Wachstumsrate bis 5 ppm 2,4-D. Die von Funktion (B) wiedergegebene

Abnahme dieser Wachstumsförderung zwischen 5 und 10 ppm wird nicht durch einen signifikanten Korrelationskoeffizient bestätigt.

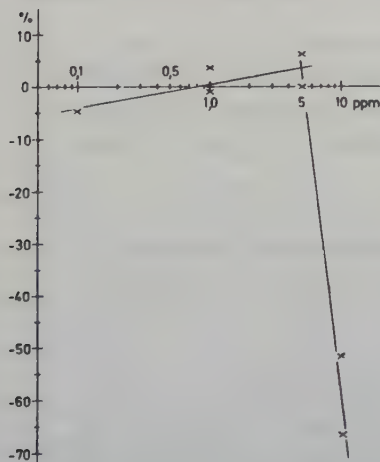


Abb. 33. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch 2,4-D im Dunkeln, ermittelt durch Chlorophyll-Fluoreszenzmessung (s. Text).

Aufgrund der Verteilung der Meßwerte aus den Dunkel-Flaschen (Abb. 33) scheint eine Zweiteilung des Funktionsverlaufes auch hier angebracht:

0,1 - 5 ppm (A):

$$y = 0,415 + 1,992 \ln x;$$

$$R = 0,747; t_R = 1,95;$$

$$N = 5 (t_{0,05}(3) = 3,18)$$

5 - 10 ppm (B):

$y = 148,337 - 90,241 \ln x$; $R = - 0,983$; $t_R = 7,66$; $N = 4$

Von 0,1 - 5 ppm ist der Funktionsverlauf (A) zwar ansteigend, bewegt sich aber im Bereich möglicher Meßfehler. Der nicht signifikante Korrelationskoeffizient läßt ebenfalls keine Aussage für eine wachstumsbeeinflussende 2,4-D-Wirkung in diesem Konzentrationsbereich zu. 10 ppm führen jedoch eindeutig zu einer Hemmung der Chlorophyll-Fluoreszenzzunahme (B). Sie wird um ca. 60 % gehemmt.

d) Zusammenfassung der Ergebnisse (a-c):

Den Ergebnissen aller drei Bestimmungsmethoden ist gemeinsam, daß in den Hell-Flaschen keine, über die möglichen Bestimmungsfehler hinausgehenden Einflüsse auf die Wachstumsrate nachgewiesen sind. Die drei Methoden führen zu etwas unterschiedlichen Aussagen über die Hemmungswerte bei Lichtausschluß durch 10 ppm 2,4-D:

Zelldichtebestimmung: 72 und 93 %

Bestimmung von aktivem Chlorophyll a: ca. 40 %

Fluoreszenzmessung: ca. 60 %.

Bei niedrigeren 2,4-D-Konzentrationen konnte bei Lichtausschluß nur durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a eine Hemmung um durchschnittlich 15 % ermittelt werden, was bei den Fehlergrenzen der Bestimmung von aktivem Chlorophyll a nicht sehr aussagekräftig ist.

Inwieweit man diese Ergebnisse auf Veränderungen des Zellchlorophyllgehaltes zurückführen kann, sollen die Ergebnisse im nächsten Abschnitt zeigen.

IV.1.2.1.2.C. Der Chlorophyllgehalt der Algenzellen

Einflüsse von 2,4-D auf den Chlorophyllgehalt der Zellen bei Testende waren sowohl mit der Bestimmung von aktivem Chlorophyll a als auch den Messungen der Chlorophyll-Fluoreszenz in den Hell- wie auch den Dunkel-Flaschen nicht zu beweisen.

IV.1.2.1.2.D. pH

a) Bei Lichteinwirkung:

Tab. a:

	ppm	0,1	1,0	1,0	5	5	10	10
1	pH _{0R}	6,54	6,48	6,55	6,53	6,50	6,62	6,70
	pH _{tR}	9,25	9,28	9,26	9,34	9,29	9,28	9,43
2	pH _{0S}	6,39	6,30	6,31	5,87	5,73	4,85	5,10
	pH _{tS}	9,15	9,25	9,28	8,85	8,50	7,10	7,82

Spalte 1 enthält die pH-Werte der Sofort-Flaschen (0_R) und Hell-Flaschen bei Versuchsende (t_R) ohne 2,4-D-Zusatz.

Spalte 2 enthält die pH-Werte der Sofort-Flaschen mit entsprechender 2,4-D-Konzentration (0_S) und der Hell-Flaschen mit 2,4-D bei Versuchsende (t_S).

Mittelwert von pH_{0R} = 6,56; s = 0,08; N = 7

Mittelwert von pH_{tR} = 9,30; s = 0,06; N = 7.

Bei Zugabe von 2,4-D zum Algenmedium sank der pH-Wert um max. 1,77.

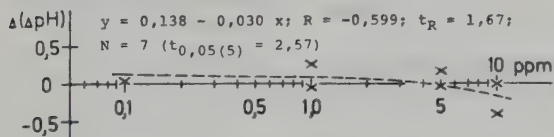


Abb. 34. Absolute Differenz der pH-Veränderung während der Testdauer zwischen Proben mit und ohne 2,4-D bei 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$.

Während der Testdauer von 48 h ist in den Hell-Flaschen sowohl ohne als auch mit 2,4-D der pH-Wert angestiegen. Die abso-

lute Differenz der pH-Veränderungen in den Hell-Flaschen ist in Abb. 34 aufgetragen. Eine Abhängigkeit von der 2,4-D-Konzentration kann aus der Regressionsfunktion nicht abgeleitet werden.

b) Ohne Lichteinwirkung:

Tab. b:

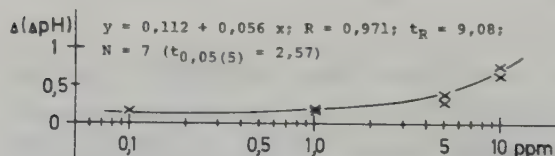
	ppm	0,1	1,0	1,0	5	5	10	10
1	pH _{0R}	6,54	6,48	6,55	6,53	6,50	6,62	6,70
	pH _{tR}	6,02	5,98	6,11	6,12	6,14	6,09	6,15
2	pH _{0S}	6,39	6,30	6,31	5,87	5,73	4,85	5,10
	pH _{tS}	6,03	5,95	6,06	5,75	5,77	4,96	5,30

Bezeichnungen äquivalent zu Tabelle a.

Mittelwert von pH_{0R} s. Tabelle a.

Mittelwert von pH_{tR} = 6,09; s = 0,06; N = 7.

Während der pH-Wert in den Dunkel-Flaschen ohne 2,4-D nach 48 h um durchschnittlich 0,47 (s = 0,07) abgesunken ist, bleibt er unter dem Einfluß von 5 ppm 2,4-D praktisch gleich und erhöht sich bei 10 ppm geringfügig.



Die Differenz der pH-Veränderungen ist von der Zunahme der 2,4-D-Konzentration abhängig (Abb. 35).

Abb.35. Absolute Differenz der pH-Veränderung während der Testdauer zwischen Proben mit und ohne 2,4-D im Dunkeln.

c) Zusammenfassung der Ergebnisse (a und b):

Die pH-Werte verändern sich bei Lichteinwirkung mit und ohne 2,4-D um die gleichen Zahlen. Ohne Lichteinwirkung wird die

pH-Abnahme mit zunehmender 2,4-D-Konzentration geringer, durch 10 ppm steigt der pH-Wert sogar etwas an. Diese Veränderungen der pH-Abnahme sind signifikant von der zunehmenden 2,4-D-Konzentration abhängig.

IV.1.2.1.2.E. Schlußfolgerungen

Da 2,4-D im gesamten geprüften Konzentrationsbereich keinen Einfluß auf den Chlorophyllgehalt der Algenzellen zeigt, ist die Bestimmung der Wachstumsraten durch alle drei aufgeführten

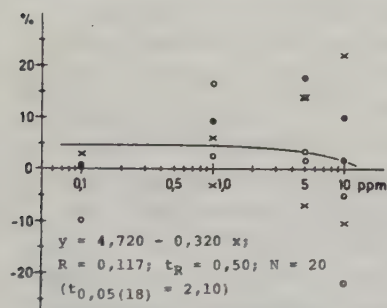


Abb.36. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten in den Hell-Flaschen mit 2,4-D, ermittelt durch: x: Zelldichtebestimmung; o: Bestimmung von aktivem Chlorophyll a; •: Chlorophyll-Fluoreszenz-messung.

Methoden zulässig. Damit ist es angebracht, die Ergebnisse aus allen drei Methoden gemeinsam zu betrachten. Sie sind in den Abb. 36 und 37 zusammengefaßt.

Die Regressionsanalyse (Abb. 36) bestätigt für den gesamten Konzentrationsbereich keine Abhängigkeit der Wachstumsrate von 2,4-D bei Lichteinwirkung. Von 0,1 - 5 ppm liegt eine durchschnittliche Erhöhung um 4,8 % vor.

Der Funktionsverlauf für die Wachstumsratenveränderung ohne Lichteinwirkung (Abb. 37) ist zweigeteilt:

(A) 0,1 - 5 ppm: $y = - 6,982 + 1,318 \ln x$; $R = 0,162$;
 $t_R = 0,59$; $N = 15$ ($t_{0,05}(13) = 2,16$)

(B) 5 - 10 ppm: $y = 56,333 - 11,883 x$; $R = - 0,877$; $t_R = 5,77$;
 $N = 12$ ($t_{0,05}(10) = 2,23$)

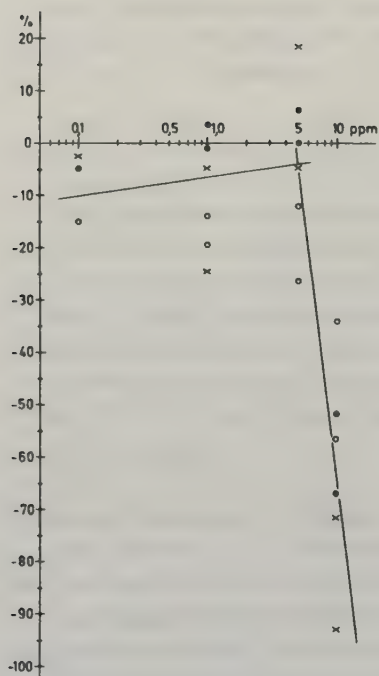


Abb. 37. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten in den Dunkel-Flaschen mit 2,4-D, ermittelt durch: x: Zelldichtebestimmung; o: Bestimmung von aktivem Chlorophyll a; •: Chlorophyll-Fluoreszenzmessung.

Von 0,1 - 5 ppm besteht keine signifikante Abhängigkeit zur Konzentrationszunahme, es liegt jedoch eine durchschnittliche Hemmung um 6,7 % vor. 10 ppm führen zu einer Hemmung um durchschnittlich 63 %.

Diese Ergebnisse haben Konsequenzen für die Eignung der Berechnung der O_2 -Bruttoproduktion unter 2,4-D-Einfluß aus den Werten der O_2 -Zehrung ohne Lichteinwirkung und der O_2 -Nettoproduktion bei Lichteinwirkung. Die in Abhängigkeit von der logarithmischen Zunahme der 2,4-D-Konzentration ab 0,1 ppm zunehmend gehemmten O_2 -Zehrung (bis zu 30 % durch 10 ppm) steht offensichtlich in ursächlichem Zusammenhang mit der Hemmung der Wachstumsrate. Da dem gegenüber die Wachstumsrate unter Lichteinwirkung zwischen 0,1 und 5 ppm sogar geringfügig

erhöht ist (die durchschnittliche Wachstumsförderung von 4,8 % ist signifikant verschieden von der durchschnittlichen Wachstumshemmung um 6,7 % ohne Lichteinwirkung in diesem Konzentrationsbereich: $t_{\bar{x}} = 2,97$ ($t_{0,05(27)} = 2,05$)), muß angenommen werden, daß die Hemmung der O_2 -Zehrung bei Lichteinwirkung nicht oder nicht in diesem Ausmaß vorhanden ist.

Nachdem die pH-Messungen keine detaillierteren Erkenntnisse liefern steht als gesichertes Resultat die Hemmung der O_2 -Zehrung bei Lichtausschluß im unmittelbaren Zusammenhang mit der Hemmung der Wachstumsraten und wahrscheinlichen Reduzie-

rung der Atmung und die Unabhängigkeit der O₂-Nettoproduktion fest.

IV.1.2.1.3. Pentachlorphenol (0,01 - 1,0 ppm)

IV.1.2.1.3.A. O₂-Produktion und O₂-Zehrung

Die O₂-Nettoproduktion (Abb. 38) wurde im Bereich von 0,01 - 0,1 ppm PCP nicht nachweisbar beeinflusst:

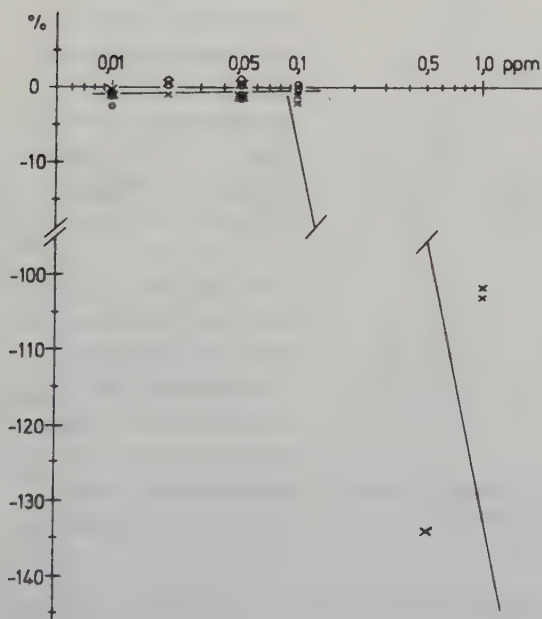
$$0,01 - 0,1 \text{ ppm: } y = - 0,069 + 0,142 \ln x; R = 0,14;$$

$$t_R = 0,37; N = 9 \quad (t_{0,05(7)} = 2,36)$$

Bei 0,5 ppm und 1,0 ppm wird die O₂-Nettoproduktion (Abb. 38) vollkommen gehemmt:

$$0,1 - 1,0 \text{ ppm: } y = - 131,103 - 53,938 \ln x; R = - 0,907;$$

$$t_R = 3,05; N = 4 \quad (t_{0,05(2)} = 4,30)$$



Der Korrelationskoeffizient ist nicht signifikant von Null verschieden, da eigenartigerweise die Hemmung bei 1,0 ppm bei ca. 100 % liegt, während bei 0,5 ppm bereits 135 %ige Hemmung vorliegt. Bei Betrachtung der Teilkomponenten O₂-Bruttoproduktion und O₂-Zehrung eröffnet sich jedoch ein Bild, das in seiner Auswirkung auf die O₂-Netto-

Abb. 38. Prozentuale Veränderung der O₂-Nettoproduktion unter PCP-Einfluß bei 150 µE/m²sec (x bei 0,5 ppm zwei deckungsgleiche Parallelwerte).

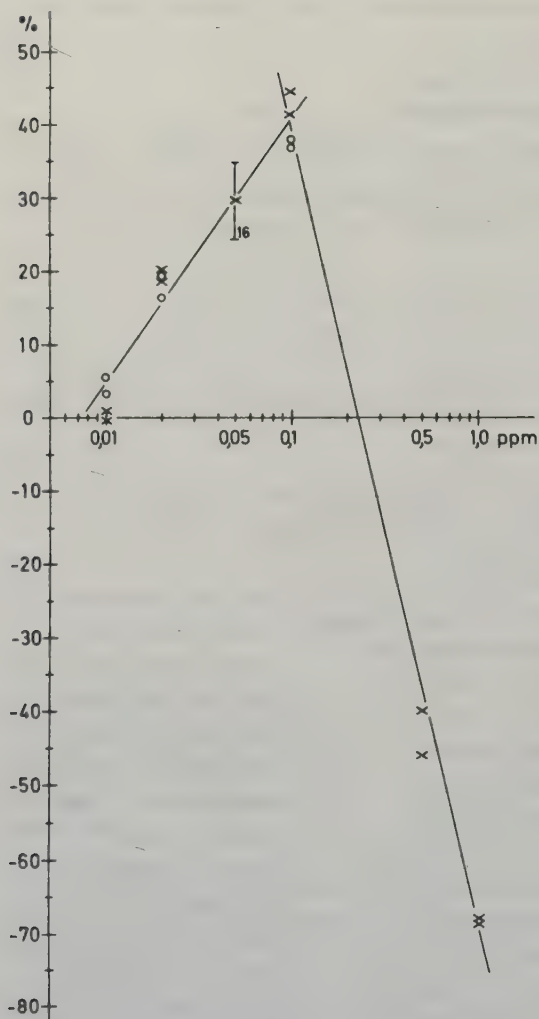


Abb.39. Prozentuale Veränderung der O₂-Zehrung unter PCP-Einfluß in Dunkel-Flaschen (s. Text).

nen schließen läßt (Abb. 39):

0,01 - 0,1 ppm:

$$y = 76,425 + 15,616 \ln x; R = 0,890; t_R = 8,71; N = 22$$

$$(t_{0,05}(20) = 2,09)$$

produktion dem des 2,4-D entspricht, allerdings mit umgekehrten Vorzeichen:

Die O₂-Zehrung (Abb. 39) steigt mit der logarithmischen Zunahme der Konzentration auf +40 % an. Bei 0,05 ppm ist der Mittelwert aus 16 Testergebnissen, gemittelt aus jeweils 2 Dunkel-Flaschen, mit seiner Standardabweichung eingetragen. Die Ergebnisse der Zehrung von den Tests mit verschiedenen Lichtstärken (vgl. Kap. IV.1.2.2.) mit 0,05 ppm PCP werden hier mit verwertet. Bei 0,5 ppm und 1,0 ppm PCP ist wiederum eine starke Hemmwirkung zu verzeichnen, was auf 2 Teilfunktio-

0,1 - 1,0 ppm:

$$y = - 71,348 - 48,096 \ln x; R = - 0,998; t_R = 19,98; N = 4$$

Die berechnete O₂-Bruttoproduktion (Abb. 40) steigt unter dem Einfluß von 0,01 - 0,05 ppm PCP bis ca. 10 % an. Es scheint sinnvoll den Gesamtverlauf des PCP-Einflusses in drei Teilfunktionen aufzugliedern:

0,01 - 0,05 ppm:

$$y = 30,367 + 6,612 \ln x; R = 0,953; t_R = 7,02; N = 7$$

$$(t_{0,05}(5) = 2,57)$$

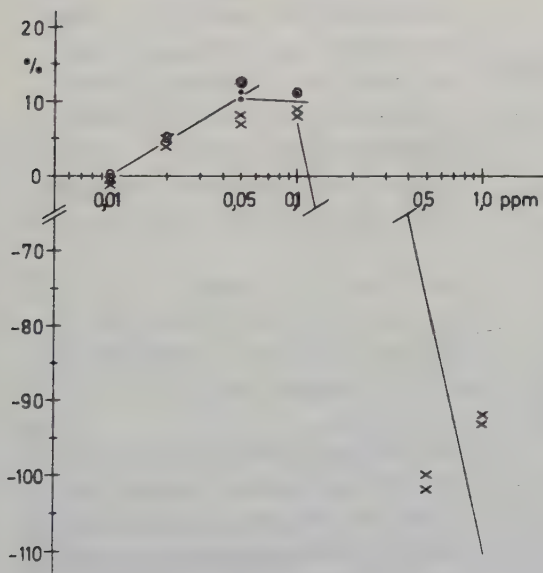
0,05 - 0,1 ppm:

$$y = 8,264 - 0,723 \ln x; R = - 0,133; t_R = 0,23; N = 5$$

$$(t_{0,05}(3) = 3,18)$$

0,1 - 1,0 ppm:

$$y = - 110,539 - 50,643 \ln x; R = - 0,955; t_R = 4,54; N = 4$$



Wie Abb. 40 zeigt und der Korrelationskoeffizient angibt, hat die Verdoppelung der PCP Konzentration von 0,05 ppm auf 0,1 ppm keinen weiteren steigernden Einfluß auf die O₂-Bruttoproduktion. Eine weitere Erhöhung der Konzentration führt zur völligen Hemmung.

Abb.40. Prozentuale Veränderung der berechneten O₂-Bruttoproduktion unter PCP-Einfluß bei 150 µE/m²sec (o bei 0,02, 0,05 und 0,1 ppm jeweils graphisch nicht trennbar).

Die Ergebnisse lauten im wesentlichen:

Die O₂-Nettoproduktion bleibt durch 0,01 - 0,1 ppm PCP unbeeinflusst. 0,5 bzw. 1,0 ppm führen zu einer Hemmung um ca. 135 % bzw. ca. 100 %. Die O₂-Zehrung ohne Lichteinwirkung steigt ab 0,01 ppm mit logarithmischer Zunahme der Konzentration um bis zu ca. 40 % (durch 0,1 ppm) und wird durch darüberliegende Konzentrationen um bis zu ca. 70 % (durch 1,0 ppm) gehemmt. Aus diesen beiden gemessenen Parameter errechnet sich eine ab 0,01 ppm mit logarithmischer Konzentrationszunahme steigende O₂-Bruttoproduktion. Die max. Steigerung beträgt durch 0,05 und 0,1 ppm 10 - 11 %. 0,5 bzw. 1,0 ppm führen zu einer Hemmung um ca. 100 % bzw. 90 - 95 %.

IV.1.2.1.3.B. Wachstumsrate

a) Zelldichte:

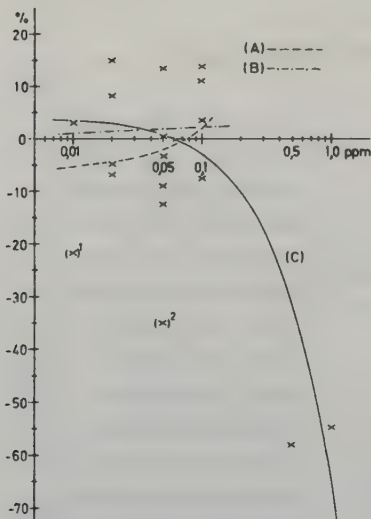


Abb. 41. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch PCP bei 150 µE/m²sec, ermittelt durch Zelldichtebestimmung (s. Text).

Die Meßwerte für die prozentualen Veränderungen der Zellwachstumsraten (Abb. 41) liegen im Bereich von 0,01 - 0,1 ppm PCP mehr oder weniger willkürlich verstreut. Unter Einberechnung aller Werte in diesem Konzentrationsbereich errechnet sich die Regressionsfunktion:

(A) 0,01 - 0,1 ppm:

$$y = -6,269 + 86,012 x;$$

$$R = 0,21; t_R = 0,80; N = 16$$

$$(t_{0,05}(14) = 2,14)$$

Ihr Verlauf und der nicht signifikante Korrelationskoeffizient bestätigen die Annahme, daß in diesem Konzentrationsbereich keine Abhängigkeit von

der PCP-Konzentration vorliegt.

In Anbetracht dieser Tatsache läßt sich durch einen t-Test zeigen, daß die in Abb. 41 in Klammern gesetzten Werte signi-

fikant von den anderen Werten abweichen ($t_1 = 2,49$; $t_2 = 3,92$; $t_{0,05(13)} = 2,16$) und sie deshalb für die weitere Betrachtung ausgeschlossen werden können. Eine Neuberechnung ohne diese Werte im genannten Konzentrationsbereich ergibt folgende Funktion:

(B) 0,01 - 0,1 ppm:

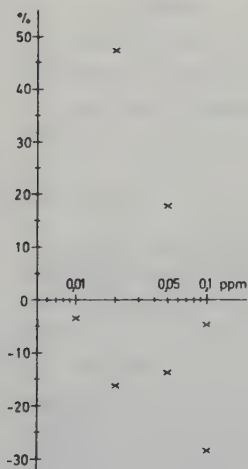
$$y = 3,277 + 0,468 \ln x; R = 0,04; t_R = 0,13; N = 14$$

$$(t_{0,05(12)} = 2,18)$$

Die Wirkungslosigkeit des PCP in diesem Konzentrationsbereich wird damit nochmals bestätigt.

Eine deutliche Hemmung der Zell-Wachstumsraten zeigen die Ergebnisse mit 0,5 und 1,0 ppm PCP. Bezieht man diese Werte in die Gesamtfunktion mit ein, so resultiert die Regressionsfunktion:

$$(C) y = 4,359 - 70,333 x; R = - 0,832; t_R = 5,60; N = 16$$



Sie bestätigt in ihrem oberen Verlauf, was bereits über die Konzentrationen bis 0,1 ppm gesagt wurde, und deutet bei 1,0 ppm auf eine maximale Wachstumshemmung von etwa 60 % innerhalb 48 h hin.

Aufgrund starker Streuung der Meßwerte lassen sich mit den Ergebnissen aus den Dunkel-Flaschen (Abb. 42) keine Aussagen im untersuchten Konzentrationsbereich machen.

Abb. 42. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch PCP im Dunkeln, ermittelt durch Zelldichtebestimmung.

b) Aktives Chlorophyll a:

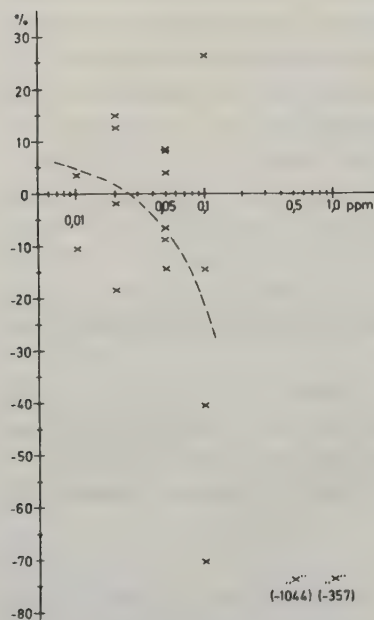


Abb. 43. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch PCP bei 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, ermittelt durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a (s. Text).

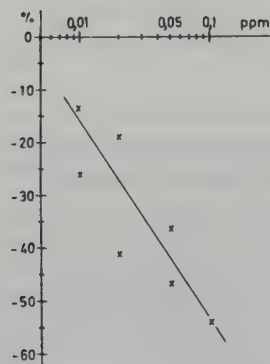


Abb. 44. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch PCP im Dunkeln, ermittelt durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a.

Die Verteilung der Meßwerte zur Veränderung der aktiven Chlorophyll a-Wachstumsraten (Abb. 43) ist mit der der Zell-Wachstumsraten vergleichbar. Die Streuung der Punkte im Konzentrationsbereich von 0,01 - 0,1 ppm PCP ist noch um einiges größer, so daß die Eindeutigkeit der Aussage eingeschränkt wird:

$$y = 7,893 - 291,905 x;$$

$$R = - 0,420; t_R = 1,73;$$

$$N = 16$$

Die Konzentrationen 0,5 und 1,0 ppm führen zu Abnahmen der Wachstumsraten um weit über 100 % (0,5 ppm: - 1044 %; 1,0 ppm: - 357 %), was das Resultat schnell einsetzenden Chlorophyll a-Abbaus nach Absterben der Algen ist.

In den Dunkel-Flaschen (Abb. 44) ist die Hemmung der Chlorophyll a-Zunahme sehr stark. Sie erstreckt sich von über 10 % bei 0,01 ppm auf ca. 55 % bei 0,1 ppm:

$$y = - 92,095 - 16,529 \ln x; R = - 0,864;$$

$$t_R = 3,44; N = 6 (t_{0,05(4)} = 2,78)$$

c) Chlorophyll-Fluoreszenz:

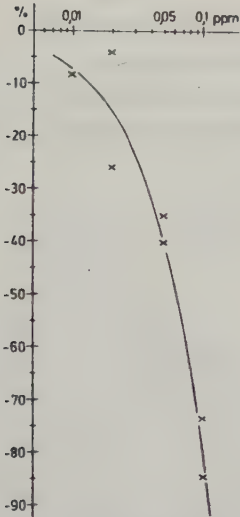


Abb. 45. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch PCP im Dunkeln, ermittelt durch Chlorophyll-Fluoreszenzmessung.

Anhand der Chlorophyll-Fluoreszenzmessungen konnte durch 0,01 - 0,1 ppm PCP keine signifikante Veränderung des Biomassewachstums in den Hell-Flaschen festgestellt werden.

In den Dunkel-Flaschen wies auch die Chlorophyll-Fluoreszenzmessung auf eine starke Hemmung des Algenwachstums hin (Abb. 45). Der Kurvenverlauf beginnt fast noch im Bereich der Meßgenauigkeit um dann steil zu einer Hemmung von ca. 80 % bei 0,1 ppm abzufallen:

$$y = 0,769 - 795,952 x; R = - 0,971;$$
$$t_R = 9,08; N = 7$$

d) Zusammenfassung der Ergebnisse (a-c)

Die Ergebnisse über die Wachstumsraten unter Lichteinwirkung stimmen bei Anwendung aller drei Methoden überein: Keine

Beeinflussung durch 0,01 - 0,1 ppm PCP. Die Wirkung von 0,5 und 1,0 ppm wurde nur durch Zelldichtebestimmung ermittelt, sie drückt sich in einer Hemmung um 50 - 60 % aus.

Die Ergebnisse über die Wachstumsraten unter Lichtausschluß fallen sehr unterschiedlich aus. Während durch Zelldichtebestimmung kein PCP-Einfluß durch 0,01 - 0,1 ppm nachweisbar war, wurde bei Bestimmung von aktivem Chlorophyll a und Fluoreszenzmessung eine zunehmende Hemmung der Wachstumsrate gemessen (ca. 10 % durch 0,01 ppm, ca. 55 % durch 0,1 ppm bzw. ca. 7 % durch 0,01 ppm, ca. 80 % durch 0,1 ppm).

Inwieweit dafür PCP-Einflüsse auf den Zellchlorophyllgehalt verantwortlich sind, ist den im folgenden Kapitel dargestellten Ergebnissen zu entnehmen.

IV.1.2.1.3.C. Chlorophyllgehalt der Algenzellen

a) Aktives Chlorophyll a:

Eine Auswirkung des PCP in den Hell-Flaschen auf den Gehalt an aktivem Chlorophyll a in den Algenzellen (Abb. 46) ist im Konzentrationsbereich von 0,01 - 0,1 ppm nicht nachweisbar. Ab 0,5 ppm PCP ist der Chlorophyll a-Gehalt in den verbliebenen Zellen fast vollkommen reduziert.

Abb. 46: 0,01 - 0,1 ppm:

$$y = 12,220 - 214,524 x; R = - 0,328; t_R = 1,30;$$

$$N = 16 (t_{0,05}(14) = 2,14)$$

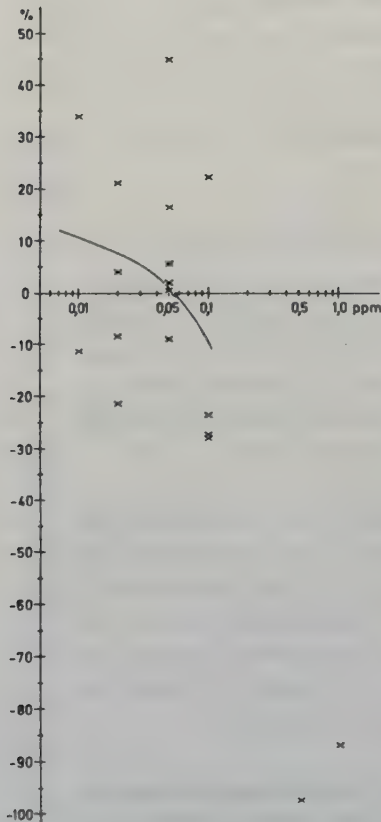


Abb.46. Prozentuale Differenz des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a pro Zelle zwischen den Algen aus den Hell-Flaschen mit und ohne PCP bei Testende.

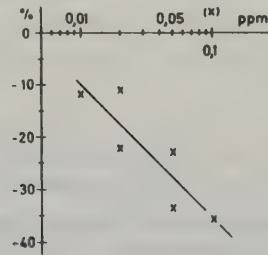


Abb.47. Prozentuale Differenz des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a pro Zelle zwischen den Algen aus den Dunkel-Flaschen mit und ohne PCP bei Testende.

Betrachtet man in Abb. 47 den in Klammern gesetzten Wert als Ausreißer, so resultiert aus der übrigen Punkteverteilung eine eindeutige Reduktion des Gehaltes der Zellen an aktivem Chlorophyll a bei Testende in den Dunkel-Flaschen durch zunehmende PCP-Konzentration im Bereich von 0,01 - 0,1 ppm.

Abb. 47:

$$y = - 60,881 - 11,059 \ln x;$$

$$R = - 0,885; t_R = 3,80;$$

$$N = 6 (t_{0,05}(4) = 2,78)$$

b) Chlorophyll-Fluoreszenz:

Der mit Hilfe der Chlorophyll-Fluoreszenz bestimmte Chlorophyllgehalt der Zellen zeigte in den Hell-Flaschen keine signifikanten nennenswerten Veränderungen unter dem Einfluß von 0,01 - 0,1 ppm PCP.

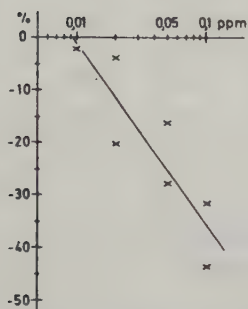


Abb. 48. Prozentuale Differenz der Chlorophyll-Fluoreszenz pro Zelle zwischen den Algen aus den Dunkel-Flaschen mit und ohne PCP bei Testende.

Für die Dunkel-Flaschen ergibt sich ein der Bestimmung von aktivem Chlorophyll a sehr ähnlicher Funktionsverlauf (Abb. 48):

$$y = -70,534 - 15,063 \ln x; R = -0,879;$$

$$t_R = 4,12; N = 7$$

c) Zusammenfassung der Ergebnisse (a und b):

Der Chlorophyllgehalt der Algenzellen wird, bestätigt durch die Ergebnisse beider Bestimmungsmethoden, durch 0,01 - 0,1 ppm PCP nicht nachweisbar beeinflusst. Die Wirkung von 0,5 und 1,0 ppm wurde nur durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a überprüft. Das Ergebnis ist ein, gegenüber den Kontrollen, um ca. 90 % erniedrigter Chlorophyllgehalt bei Testende.

Auch die Ergebnisse über die Einflüsse bei Lichtausschluß stimmen im wesentlichen überein. Ab 0,01 ppm PCP ist der Zellchlorophyllgehalt gegenüber den Kontrollen bei Testende mit logarithmischer Konzentrationszunahme bis zu ca. 35 % durch 0,1 ppm verringert.

Rückschlüsse auf die Bestimmung der Wachstumsraten werden in Kap. IV.1.2.1.3.E. gezogen.

IV.1.2.1.3.D. pH

a) Bei Lichteinwirkung:

Tab. a:

	ppm	0,01	0,02	0,02	0,05	0,05	0,1	0,1
1	pH _{0R}	6,54	6,48	6,53 ⁽¹⁾	6,53 ⁽¹⁾	6,50	6,62	6,70
	pH _{tR}	9,25	9,28	9,34 ⁽¹⁾	9,34 ⁽¹⁾	9,29	9,28	9,43
2	pH _{0S}	6,40	6,39	6,44	6,50	6,40	6,55	6,61
	pH _{tS}	9,19	9,25	9,28	9,28	9,19	9,24	9,35

Spalte 1 enthält die pH-Werte der Sofort-Flaschen (0_R) und Hell-Flaschen bei Versuchsende (t_R) ohne PCP-Zusatz.

Spalte 2 enthält die pH-Werte der Sofort-Flaschen mit entsprechender PCP-Konzentration (0_S) und der Hell-Flaschen mit PCP bei Versuchsende (t_S).

Mittelwert von pH_{0R} = 6,56; s = 0,08; N = 6.

Mittelwert von pH_{tR} = 9,31; s = 0,07; N = 6.

(Es sind nur 6 Werte zur Mittelwertbildung herangezogen, da die mit (1) gekennzeichneten pH-Werte nur von jeweils einem Wert aus einer Flasche stammen. Es wurden 2 PCP-Konzentrationen in einem Test untersucht.)

Mittelwert von pH_{0S} = 6,47; s = 0,09; N = 7.

Mittelwert von pH_{tS} = 9,25; s = 0,06; N = 7.

Die Mittelwerte von pH_{0R} und pH_{0S} sowie von pH_{tR} und pH_{tS} sind nicht signifikant von einander verschieden:

$\bar{t}_{x_0} = 1,97$ ($t_{0,05(11)} = 2,20$); $t_{x_t} = 1,72$.

Sowohl ohne als auch mit PCP erhöht sich der pH-Wert in den Hell-Flaschen nach 48 h. Die Differenz dieser Veränderungen ist unbedeutend.

b) Ohne Lichteinwirkung:

Tab. b (Werte äquivalent zu Tab. a):

	ppm	0,01	0,02	0,02	0,05	0,05	0,1	0,1
1	pH _{0R}	6,54	6,48	6,53 ⁽¹⁾	6,53 ⁽¹⁾	6,50	6,62	6,70
	pH _{tR}	6,02	5,98	6,12 ⁽¹⁾	6,12 ⁽¹⁾	6,14	6,09	6,15
2	pH _{0S}	6,40	6,39	6,44	6,50	6,40	6,55	6,61
	pH _{tS}	5,98	5,96	6,01	5,99	6,02	5,98	5,96

Mittelwert von pH_{0R} und pH_{0S} siehe Tab. a.

Mittelwert von pH_{tR} = 6,08; s = 0,07; N = 6 (s. Tab. a).

Mittelwert von pH_{tS} = 5,99; s = 0,02; N = 7.

Die beiden Mittelwerte sind signifikant voneinander verschieden:

$$t_{\bar{x}_t} = 3,53 \quad (t_{0,05(11)} = 2,20).$$

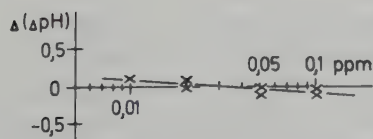


Abb. 49. Absolute Differenz der pH-Veränderung während der Testdauer zwischen Proben mit und ohne PCP im Dunkeln.

Aus Abb. 49 geht hervor, daß die Differenzen der pH-Veränderungen in den Dunkel-Flaschen zwar nur wenig von Null abweichen, in ihrem Verlauf sind sie jedoch eindeutig von der PCP-Konzentration abhängig:

$$y = -0,255 - 0,073 \ln x; R = -0,828; t_R = 3,30; N = 7$$

$$(t_{0,05(5)} = 2,57)$$

Bei 0,01 ppm und 0,02 ppm PCP ist die pH-Abnahme etwas geringer, bei 0,05 ppm und 0,1 ppm PCP etwas stärker als in den Dunkel-Flaschen ohne PCP.

c) Zusammenfassung der Ergebnisse (a und b):

Unter Lichteinfluß ist die pH-Zunahme im Bereich von 0,01 - 0,1 ppm PCP unabhängig. Der Verlauf der Differenzen der pH-Veränderungen bei Lichtausschluß ist statistisch signifikant von der Konzentrationszunahme abhängig. Die Meßwerte liegen jedoch so eng an der x-Achse, daß keine verbindliche Aussage abzuleiten ist.

IV.1.2.1.3.E. Schlußfolgerungen

Zunächst seien nur die Wirkungen des PCP im Konzentrationsbereich von 0,01 - 0,1 ppm betrachtet. In Übereinstimmung aller Meßmethoden ist weder eine Wirkung auf den Zellchlorophyllgehalt noch auf die Wachstumsrate bei Lichteinwirkung nachgewiesen. Bei der Bestimmung der unter Lichtausschluß vorliegenden Wachstumsraten konnte die Zelldichtebestimmung keinen Einfluß durch PCP nachweisen. Die durch Chlorophyllbestimmung erhaltenen Ergebnisse über eine Hemmung bei PCP-Konzentrationszunahme stehen in direktem Zusammenhang mit der nachgewiesenen zunehmenden Reduzierung des Zellchlorophyllgehaltes durch steigende PCP-Konzentrationen. Letztendlich ist festzustellen, daß die Wachstumsrate mit und ohne Lichteinwirkung nicht wesentlich beeinflusst wird. Der Zellchlorophyllgehalt ist bei Lichtausschluß bei Testende in signifikanter Abhängigkeit zur PCP-Konzentrationszunahme im Vergleich zu den Kontrollen verringert (bis um ca. 35 % durch 0,1 ppm).

Die 50 - 60 %-ige Herabsetzung der Wachstumsrate (Zelldichtebestimmung) und der fast völlige Abbau des Chlorophylls in den Zellen, beides bei Lichteinwirkung, durch 0,5 und 1,0 ppm, sind Ausdruck der erheblichen Zellschädigung durch diese Konzentrationen.

Die bis 0,1 ppm PCP gefundenen Veränderungen der O₂-Produktion und O₂-Zehrung sind folglich hauptsächlich verursacht durch Beeinflussung der Photosynthese und Atmung. Die O₂-Nettoproduktion bleibt bis 0,1 ppm unbeeinflusst. Die O₂-Zehrung wird unter Lichtausschluß bis um ca. 40 % durch 0,1 ppm erhöht. Unter Annahme, daß dies auch bei Lichteinwirkung geschieht, ergibt sich eine Steigerung der berechneten O₂-Bruttoproduktion bis zu max. 11 % durch 0,05 und 0,1 ppm. Bei 0,5 und 1,0 ppm kommt eine allgemeine Zellschädigung hinzu, was zu einem Zusammenbruch der O₂-Produktion und einer Reduktion der O₂-Zehrung um 40 bzw. 70 % führt.

Die widersprüchlich erscheinenden Ergebnisse über die Hemmung der O₂-Nettoproduktion von ca. 135 % durch 0,5 ppm und ca. 100 % durch 1,0 ppm finden ihre Erklärung in den Ergebnissen über die O₂-Zehrung. Bei einem Mengenverhältnis von O₂-Nettoproduktion zu O₂-Zehrung von 2:1 (vgl. Kap. IV.1.1.2.1.) kann bei einer Hemmung der O₂-Zehrung um 40 % durch 0,5 ppm die O₂-Nettoproduktion bei völliger Einstellung der O₂-Bruttoproduktion um max. 130 % gehemmt werden, was mit der gefundenen ca. 135 %-igen Hemmung gut überein stimmt. Nimmt die Hemmung der O₂-Zehrung weiter zu, muß die Hemmung der O₂-Nettoproduktion wieder geringer werden. Diese Rechnung unterstützt die Annahme, daß die Veränderung der O₂-Zehrung mit und ohne Lichteinwirkung ähnlich verläuft.

IV.1.2.1.4. p-Nitrophenol (0,01 - 10 ppm)

IV.1.2.1.4.A. O₂-Produktion und O₂-Zehrung

Die Beschreibung der Wirkung des p-Nitrophenols auf die O₂-Nettoproduktion (Abb. 50) ist mathematisch nicht ganz eindeutig. Die Verteilung der Meßwerte läßt auf den ersten Blick eine Unterteilung in zwei Funktionsverläufe erwarten:

(A) 0,01 - 5 ppm:

$$y = -2,078 - 0,495 \ln x; R = -0,711; t_R = 2,48;$$

$$N = 8; (t_{0,05}(6) = 2,45)$$

(B) 5 - 10 ppm:

$$y = 56,459 - 37,070 \ln x; R = - 0,994; t_R = 12,37;$$

$$N = 4 \quad (t_{0,05}(2) = 4,30)$$

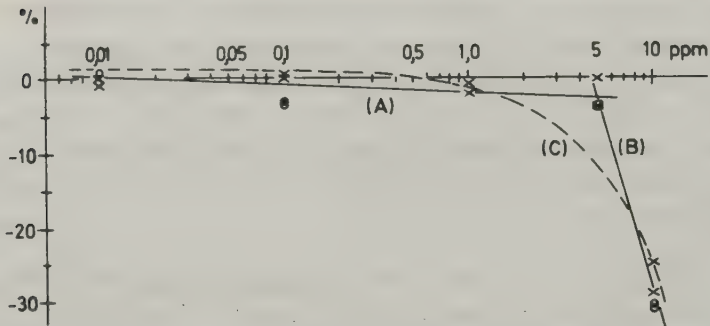


Abb. 50. Prozentuale Veränderung der O₂-Nettoproduktion unter p-Nitrophenoleinfluß bei 150 µE/m²sec (o bei 5 ppm zwei graphisch nicht trennbare Werte).

Die Funktion (A) verläuft sehr flach und eng an der x-Achse. Ihr Korrelationskoeffizient ist laut t-Test jedoch signifikant von Null verschieden, d.h. bei 0,01 - 5 ppm ist eine, wenn auch nur geringfügige, zunehmende Hemmung der O₂-Nettoproduktion zu erkennen. Über 5 ppm steigt diese Hemmung deutlich auf 30 % an (B).

Will man den Hemmungsverlauf durchgehend beschreiben, so ergibt sich eine lineare Funktion:

$$(C) y = 1,566 - 2,633 x; R = - 0,912; t_R = 6,27; N = 10$$

$$(t_{0,05}(8) = 2,31)$$

Diese Funktion (C) unterstützt den Verlauf der Funktionen (A) und (B), indem sie erst über 5 ppm einen deutlichen p-Nitrophenoleinfluß erkennen läßt.

Eindeutig sind die Verhältnisse bei der O₂-Zehrung (Abb. 51); der lineare Kurvenverlauf beschreibt die zehrungserhöhende Wirkung der Testsubstanz:

$$y = 4,680 + 5,947 x; R = 0,982; t_R = 14,55; N = 10$$

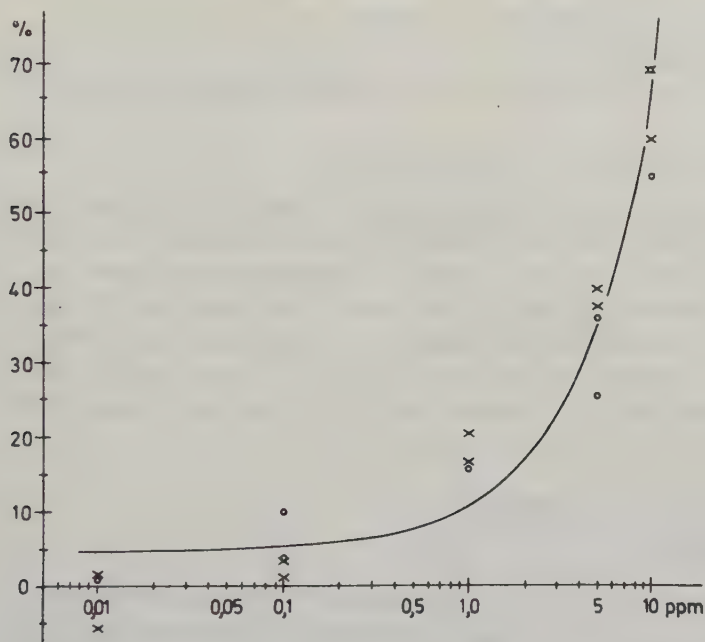


Abb. 51. Prozentuale Veränderung der O₂-Zehrung unter p-Nitrophenoleinfluß in Dunkel-Flaschen (zu o bei 0,01 ppm und 1,0 ppm kein Parallelwert).

10 ppm p-Nitrophenol verursachen eine bis zu 70 %-igen Erhöhung der O₂-Zehrung.

Die berechneten Werte der O₂-Bruttoproduktion (Abb. 52) legen wiederum eine Zweiteilung des Kurvenverlaufs nahe:

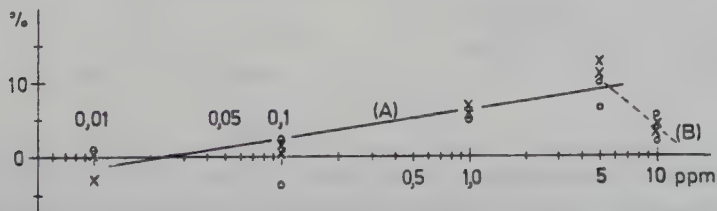


Abb. 52. Prozentuale Veränderung der berechneten O₂-Bruttoproduktion unter p-Nitrophenoleinfluß bei 150 $\mu E/m^2 sec$ (o bei 0,01 ppm kein Parallelwert).

(A) 0,01 - 5 ppm:

$$y = 6,337 + 1,711 \ln x; R = 0,908; t_R = 5,30; N = 8;$$

(B) 5 - 10 ppm:

$$y = 24,603 - 8,945 \ln x; R = - 0,921; t_R = 3,33; N = 4$$

Die Ergebnisse lauten im wesentlichen:

Die O₂-Nettoproduktion erfährt durch 10 ppm p-Nitrophenol eine Hemmung um ca. 30 %. Die Ergebnisse über die Wirkung darunterliegender Konzentrationen liegen innerhalb der möglichen Bestimmungsfehler. Die O₂-Zehrung unter Lichtausschluß wird ab 0,01 ppm in linearer Abhängigkeit zur Konzentrationszunahme verstärkt gehemmt, bis zu ca. 64 % durch 10 ppm. Daraus läßt sich rechnerisch eine Zunahme der O₂-Bruttoproduktion um maximal ca. 10 % durch 5 ppm ermitteln.

IV.1.2.1.4.B. Wachstumsrate

a) Zelldichte:

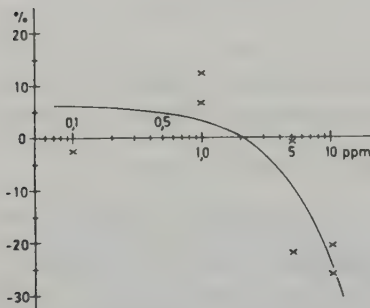


Abb.53. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch p-Nitrophenol im Dunkeln, ermittelt durch Zelldichtebestimmung.

Die mit Hilfe der Zelldichte ermittelte Wachstumsrate wurde von p-Nitrophenol in den Hell-Flaschen nicht nachweisbar beeinflusst.

In den Dunkel-Flaschen (Abb. 53) dagegen, stellt sich ab 5 ppm eine Hemmung der Wachstumsraten ein:

$$y = 6,290 - 3,019 x;$$

$$R = - 0,836; t_R = 3,40; N = 7$$

b) Aktives Chlorophyll a:

Die durch Chlorophyll a-Bestimmung berechneten Wachstumsraten (Abb. 54) sind durch p-Nitrophenolkonzentrationen bei Licht-einwirkung ab 5 ppm stark erniedrigt:

$$y = 11,454 - 7,451 x; R = - 0,911; t_R = 4,94; N = 7$$

Ein ähnlicher Kurvenverlauf ist bei der Auswertung der Wachstumsraten in den Dunkel-Flaschen (Abb. 55) zu beobachten:

$$y = - 2,354 - 7,060 x; R = - 0,880; t_R = 4,14; N = 7$$

Die Steigungen der beiden Funktionen sind fast identisch.

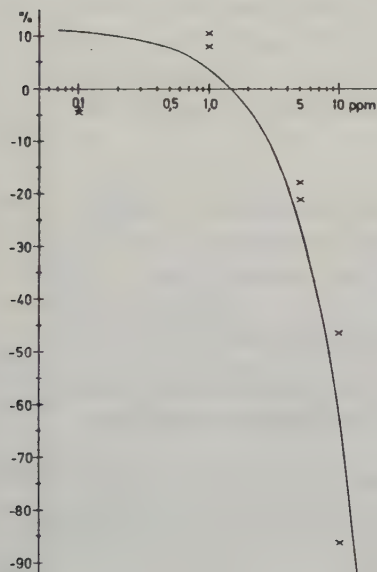


Abb. 54. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch p-Nitrophenol bei 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, ermittelt durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a.

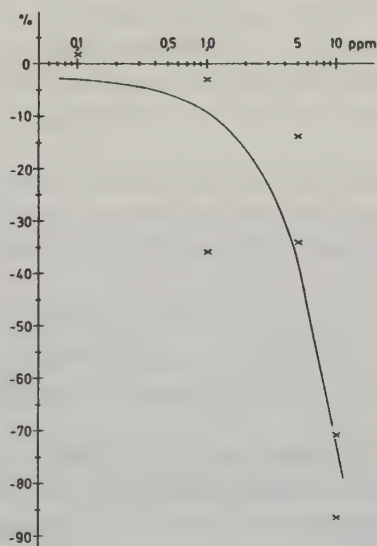


Abb. 55. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten durch p-Nitrophenol im Dunkeln, ermittelt durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a.

c) Chlorophyll-Fluoreszenz:

Chlorophyll-Fluoreszenzmessungen waren wegen der kräftigen gelben Färbung durch p-Nitrophenol nicht möglich. Versuche, die Gelbfärbung durch Bezugsproben mit gleich konzentrierten p-Nitrophenollösungen in Wasser gleichen pH-Wertes auszugleichen, führten zu keinem verwertbaren Ergebnis.

d) Zusammenfassung der Ergebnisse (a und b):

Die durch die beiden angewandten Methoden ermittelten Ergebnisse über die Wachstumsratenbeeinflussung stimmen nicht überein. Die Bestimmung der Zelldichte führt zur Aussage, daß die Wachstumsrate unter Lichteinwirkung nicht beeinflusst wird und unter Lichtausschluß erst durch 10 ppm p-Nitrophenol um ca. 24 % verringert wird. Die Bestimmung von aktivem Chlorophyll a führt dagegen zu dem Ergebnis, daß unter Lichteinwirkung die Wachstumsrate in linearer Abhängigkeit zur Konzentrationszunahme über 1,0 ppm, bis zu ca. 26 % durch 5 ppm und ca. 63 % durch 10 ppm, reduziert wird. Ohne Lichteinwirkung verläuft diese Hemmung der Wachstumsrate ähnlich; sie beträgt durch 5 ppm ca. 38 % und durch 10 ppm ca. 73 %.

In welchem Ausmaß diese differierenden Aussagen auf Veränderungen des Zellchlorophyllgehaltes zurückzuführen sind, müssen die Ergebnisse in den folgenden Kapiteln beantworten.

IV.1.2.1.4.C. Chlorophyllgehalt der Algenzellen

Bei Verwendung von p-Nitrophenol war aus schon beschriebenen Gründen keine Messung der Chlorophyll-Fluoreszenz möglich.

Der Einfluß des p-Nitrophenols auf den nach Testende vorliegenden Gehalt an aktivem Chlorophyll a pro Zelle ist in Hell- und Dunkel-Flaschen vergleichbar.

Hell-Flaschen, Abb. 56: $y = 8,336 - 4,416 x$; $R = - 0,739$;
 $t_R = 2,46$; $N = 7$ ($t_{0,05(5)} = 2,57$)

Dunkel-Flaschen, Abb. 57: $y = 10,382 - 5,644 x$; $R = - 0,768$;
 $t_R = 2,68$; $N = 7$

Der Korrelationskoeffizient des Kurvenverlaufs in Abb. 56 verfehlt zwar knapp den zur Signifikanz notwendigen t_R -Wert, es ist aber sicher nicht falsch zu sagen, daß der Chlorophyll a-

Gehalt der Zellen sowohl unter Licht als auch in Dunkelheit nach einer Testdauer von 48 h unter dem Einfluß von 5 ppm und 10 ppm p-Nitrophenol geringer ist als ohne p-Nitrophenol (durch 5 ppm um ca. 15 %, durch 10 ppm um ca. 40 %).

Die Bedeutung dieses Befundes für die unterschiedlichen Ergebnisse der Wachstumsratenbestimmung wird in Kap. IV.1.2.1.4.E. ausgeführt.

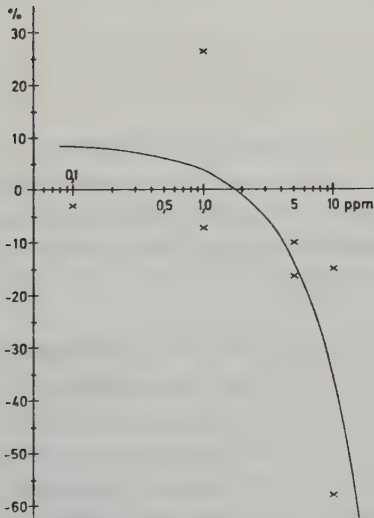


Abb. 56. Prozentuale Differenz des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a pro Zelle zwischen den Algen aus den Hell-Flaschen mit und ohne p-Nitrophenol bei Testende.

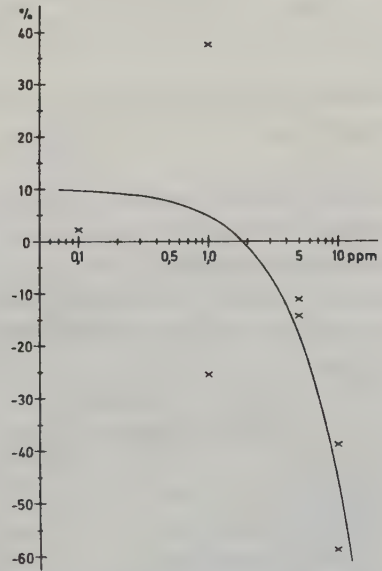


Abb. 57. Prozentuale Differenz des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a pro Zelle zwischen den Algen aus den Dunkel-Flaschen mit und ohne p-Nitrophenol bei Testende.

IV.1.2.1.4.D. pH

a.) Bei Lichteinwirkung:

Tab. a:

	ppm	0,1	1,0	1,0	5	5	10	10
1	pH _{0R}	6,54	6,48	6,55	6,53	6,50	6,62	6,70
	pH _{tR}	9,25	9,28	9,26	9,34	9,29	9,28	9,43
2	pH _{0S}	6,39	6,39	6,44	6,39	6,30	6,30	6,38
	pH _{tS}	9,15	9,11	9,13	8,46	8,57	7,12	7,29

Die Mittelwerte von pH_{0R} und pH_{tR} siehe Kapitel IV.1.2.1.2.D., Tabelle a.

Der Mittelwert von pH_{0S} ist 6,37 ($s = 0,05$). Er ist damit um 0,19 niedriger als der Mittelwert von pH_{0R} (6,56) und signifikant von ihm verschieden ($t_{\bar{x}} = 5,47$; $t_{0,05(12)} = 2,18$). Die Konzentrationszunahme von 0,1 auf 10 ppm p-Nitrophenol erniedrigt jedoch den pH-Wert in den Sofort-Flaschen nicht wesentlich weiter.

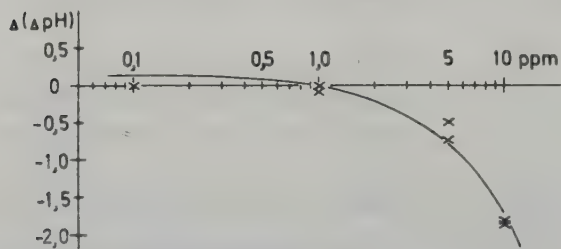


Abb.58. Absolute Differenz der pH-Veränderung während der Testdauer zwischen Proben mit und ohne p-Nitrophenol bei 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$.

$$y = 0,174 - 0,193 x; R = - 0,987; t_R = 13,73; N = 7$$

$$(t_{0,05(5)} = 2,57)$$

Abb. 58 läßt erkennen, daß eine Konzentrationserhöhung von p-Nitrophenol auf 5 und 10 ppm zu einer geringeren pH-Anhebung in den Hell-Flaschen führt:

b) Ohne Lichteinwirkung:

Tab. b:

	ppm	0,1	1,0	1,0	5	5	10	10
1	pH _{0R}	6,54	6,48	6,55	6,53	6,50	6,62	6,70
	pH _{tR}	6,02	5,98	6,11	6,12	6,14	6,09	6,15
2	pH _{0S}	6,39	6,39	6,44	6,39	6,30	6,30	6,38
	pH _{tS}	6,02	5,99	6,10	6,00	5,97	5,83	5,87

Mittelwert von pH_{0R} und pH_{0S} siehe Tabelle a.

Mittelwert von pH_{tR} = 6,09; s = 0,06; N = 7.

In den Dunkel-Flaschen (Abb. 59) ist die pH-Abnahme unter dem Einfluß von 0,1 - 1,0 ppm p-Nitrophenol etwas geringer und gleicht sich bei 5 - 10 ppm den 0_R-Verhältnissen fast an:

$$y = 0,091 - 0,027 \ln x; R = - 0,918; t_R = 5,18; N = 7$$

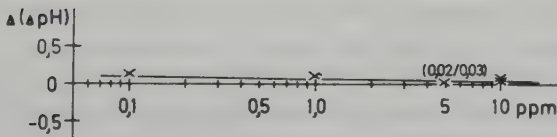


Abb. 59. Absolute Differenz der pH-Veränderung während der Testdauer zwischen Proben mit und ohne p-Nitrophenol im Dunkeln.

Der signifikante Korrelationskoeffizient weist auf eine eindeutige inverse Abhängigkeit der pH-Veränderung von der p-Nitrophenolkonzentration selbst bei diesen kleinen Meßwerten hin.

c) Zusammenfassung der Ergebnisse (a und b):

Die Differenz der pH-Wertzunahme zwischen der p-Nitrophenol-belasteten und unbelasteten Chlorella-Kultur in den Hell-Flaschen ist, beginnend bei 5 ppm, gut mit dem Verlauf der O₂-Nettoproduktion, in Einklang zu bringen. Die negative Steigung der Korrelationsfunktion aus den Versuchen ohne Lichteinwirkung (Abb. 74) entspricht der zunehmenden O₂-Zehrung.

IV.1.2.1.4.E. Schlußfolgerungen

Die Ergebnisse über die Veränderungen des Chlorophyllgehaltes zeigen, daß die durch Chlorophyllbestimmung ermittelte Beeinflussung der Wachstumsrate im wesentlichen auf diesen Veränderungen beruht. Da die durch Zelldichtebestimmung ermittelte Wachstumsrate unter Lichteinwirkung nicht nachweisbar von p-Nitrophenol beeinflusst wird, ist die Abnahme der O₂-Nettoproduktion hauptsächlich in Zusammenhang mit Photosynthese- und Atmungsbeeinflussung zu sehen. Die mit steigender p-Nitrophenolkonzentration ab 0,01 ppm linear zunehmende O₂-Zehrung (bis zu ca. 64 % durch 10 ppm) verläuft entgegengesetzt der Hemmung der Wachstumsrate unter Lichtausschluß, die durch 10 ppm um ca. 24 % gehemmt wird. Die atmungbeschleunigende p-Nitrophenolwirkung ist folglich durch die beschriebene Zunahme der O₂-Zehrung eher zu schwach charakterisiert.

Die Berechnung der O₂-Bruttoproduktion muß sich auch hier auf die Annahme stützen, daß die O₂-Zehrung unter Lichteinwirkung ebenso beeinflusst wird wie im Dunkeln, worauf in der Diskussion in Zusammenhang mit den PCP-Ergebnissen eingegangen wird. Die Funktionen A und B Abb. 52 beschreiben eine Steigerung der O₂-Bruttoproduktion bis zu 10 % bei 5 ppm.

Die pH-Messungen stehen in keinem entscheidenden Widerspruch zu diesem Resultat.

IV.1.2.1.5. Zusammenfassender Vergleich der Wirkungen der vier Testsubstanzen

Die mit dem erstellten Testsystem ermittelten Ergebnisse sind weitgehend im Einklang mit den bekannten physiologischen Wirkungsweisen der Testchemikalien.

Atrazin, bekannt als Photosynthesehemmer, hemmt ab 0,1 ppm die O₂-Produktion und läßt die O₂-Zehrung im Dunkeln unbeeinflußt. Nachdem keines der Ergebnisse gegen die Annahme spricht, daß die O₂-Zehrung auch bei Lichteinwirkung im wesentlichen unbeeinflußt ist, sehe ich den konzentrationsabhängigen Verlauf der O₂-Bruttoproduktionshemmung (Abb. 17) mit der fast 100 %-igen Einstellung durch 1,0 ppm als Bestätigung für die spezifische Photosynthesehemmung an.

2,4-D wirkt dagegen hauptsächlich auf die Wachstumseigenschaften von *Ch. fusca*. Die O₂-Nettoproduktion bleibt im gesamten Konzentrationsbereich (0,1 - 10 ppm) unbeeinflußt. Die O₂-Zehrung nimmt im Dunkeln ab 0,1 ppm in Abhängigkeit zur Konzentrationszunahme bis um ca. 30 % (durch 10 ppm) ab, was vor allem durch eine Reduktion der Dunkel-Wachstumsrate bis zu 63 % (durch 10 ppm) verursacht wird. Da im Gegensatz dazu die Wachstumsrate unter Lichteinwirkung etwas erhöht ist, was auf eine bekannte physiologische 2,4-D-Wirkung hinweist und in der Diskussion näher betrachtet werden soll, hat die Berechnung der O₂-Bruttoproduktion keinen Aussagewert.

Bei **P C P** setzt sich die physiologische Wirkungsweise als Atmungsentkoppler durch: Die O₂-Zehrung wird ab 0,01 ppm in Abhängigkeit zur Konzentrationszunahme bis zu 40 % (durch 0,1 ppm) erhöht. Die Wachstumsrate wird dabei nicht nachweislich beeinflusst, obwohl der Zellchlorophyllgehalt unter Lichtausschluß bei Testende bis zu 35 % (durch 0,1 ppm) unter dem der Kontrollen liegt. Die O₂-Nettoproduktion bleibt bis

0,1 ppm unbeeinflusst. Die berechnete O₂-Bruttoproduktion wird bis zu ca. 11 % (durch 0,05 und 0,1 ppm) gesteigert (kein gemessener Parameter spricht gegen deren Berechnung). 0,5 und 1,0 ppm schädigen die Zellen soweit, daß die Wachstumsrate (hier nur unter Lichteinwirkung bestimmt) um 50 - 60 % und der Zellchlorophyllgehalt (nur als aktives Chlorophyll a bei Lichteinwirkung überprüft) fast völlig reduziert werden. Die O₂-Zehrung wird durch diese Konzentrationen um ca. 40 bzw. ca. 70 % verringert; die O₂-Produktion bricht völlig zusammen.

p-Nitrophenol, dessen Wirkung auf Algen im Vergleich zu den anderen Testchemikalien weitgehend unbekannt ist, zeigt in seiner physiologischen Wirkungsweise eine enge Verwandtschaft zu PCP. Obwohl die Wachstumsrate unter Lichtausschluß geringfügig gehemmt wird - um ca. 24 % durch 10 ppm -, steigt die O₂-Zehrung ab 0,01 ppm mit zunehmender Konzentration um bis zu ca. 64 % (durch 10 ppm) linear an. Die Beschleunigung der Atmung muß demzufolge noch etwas höher ausfallen. Unter der Voraussetzung, daß die O₂-Zehrung bei Lichteinwirkung gleichermaßen beeinflusst wird, läßt sich die sehr geringe Hemmung der O₂-Nettoproduktion bis 5 ppm (ca. 3 % durch 5 ppm) durch ein Ansteigen der O₂-Bruttoproduktion bis um ca. 10 % (durch 5 ppm) erklären; die Hemmung der O₂-Nettoproduktion um ca. 30 % durch 10 ppm wäre eine Folge der wieder zurückgehenden O₂-Bruttoproduktion und weiter ansteigenden O₂-Zehrung. Es sind auch hier Zusammenhänge mit der unterschiedlichen Beeinflussung der Wachstumsrate mit und ohne Lichteinwirkung ableitbar, und ein Vergleich mit der Erhöhung der O₂-Bruttoproduktion durch PCP drängt sich auf, was in der Diskussion näher erörtert werden soll.

Wie aus diesen Ergebnissen hervorgeht, stehen sich auf der einen Seite Atrazin, als Hemmer der Photosynthese, und auf der anderen Seite PCP und p-Nitrophenol, als Atmungsentkoppler, gegenüber. 2,4-D dagegen wirkt sich auf die Wachstumsgeschwindigkeit aus.

Wie schon in der Einleitung beschrieben, sind durch die Tiefenausdehnung aquatischer Systeme unterschiedlich starke Lichteinwirkungen auf das Phytoplankton gegeben. Bisher wurde diese Tatsache in ökotoxikologischen Untersuchungen kaum berücksichtigt. Im folgenden Abschnitt soll versucht werden, evtl. Zusammenhänge zwischen unterschiedlichen Lichtstärken und dem Ausmaß der Xenobiotikawirkungen herauszufinden. Als Testchemikalien wurden Atrazin und PCP, besonders interessant durch ihre gegensätzliche Wirkungsweise, ausgewählt. Untersuchungsparameter sollen dabei die zu berechnende O_2 -Bruttoproduktion ("apparente O_2 -Bruttoproduktion", vgl. Kap. II.1.1.) sein, da Lichteinflüsse besonders auf die Beeinflussung der Photosyntheseprozesse erwartet werden. Begleitende Meßparameter sind wiederum die Wachstumsrate und der Zellchlorophyllgehalt. Um die Wirkungsweisen näher zu spezifizieren, werden die Kombinationsgrößen " O_2 -Bruttoproduktion pro Zelle" und "Aktivität" (vgl. Kap. II.1.1.) berechnet (vgl. Kap. II.1.2.).

IV.1.2.2. Einfluß verschiedener Lichtstärken auf das Ausmaß der Atrazin- bzw. PCP-Wirkung

IV.1.2.2.1. O_2 -Bruttoproduktion

Atrazin:

Auf Grund der in Kap. IV.1.2.1.1.A. geschilderten Ergebnisse über den Einfluß von Atrazin auf die O_2 -Bruttoproduktion bei $150 \mu E/m^2sec$ wurde für die Versuche bei variierenden Lichtstärken eine Konzentration von $0,2 \text{ ppm}$ ausgewählt. Diese Konzentration führt bei $150 \mu E/m^2sec$ zu einer Hemmung um ca. 30% (Abb. 17), läßt also noch genügend Spielraum für evtl. Veränderungen nach "oben" oder "unten" durch unterschiedliche Lichtstärken.

Wie Abb. 60 zeigt, ist eine eindeutige Abhängigkeit der Atrazinwirkung auf die prozentuale Veränderung der O_2 -

Bruttoproduktion von der Lichtstärke nachgewiesen. Um den gesamten Kurvenverlauf mathematisch beschreiben zu können, wird er in drei Teilfunktionen untergliedert:

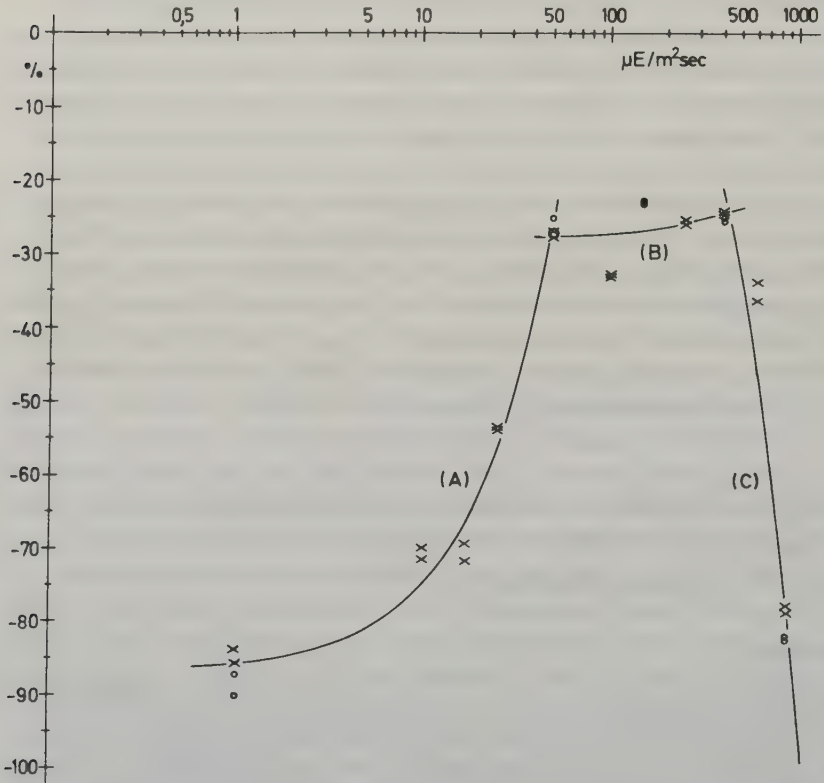


Abb. 60. Einfluß von 0,2 ppm Atrazin auf die berechneten O₂-Bruttoproduktion unter verschiedenen Lichtstärken (s. Text).

(A) 1 - 50 μE/m²sec:

$$y = -86,801 + 1,217 x; R = 0,993; t_R = 19,06; N = 7$$

$$(t_{0,05}(5) = 2,57)$$

(B) $50 - 400 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = -27,791 + 0,0088 x; R = 0,433; t_R = 1,07; N = 7$$

(C) $400 - 850 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 29,254 - 0,125 x; R = -0,974; t_R = 7,43; N = 5$$
$$(t_{0,05}(3) = 3,18)$$

Die bei $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ festgestellte Hemmung um ca. 30 % (Abb. 17) bleibt für einen Lichtbereich von $50 - 400 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ gültig. Bei diesen Lichtstärken bewegt sich die Hemmung zwischen 25 und 30 %. Der von Null nicht signifikant verschiedene Korrelationskoeffizient der Funktion (B) bestätigt die Unabhängigkeit von der Lichtstärke in diesem Bereich. Betrachten wir jedoch Lichtstärken "links und rechts" davon, so ist eine deutliche Erhöhung der O_2 -Bruttoproduktionshemmung zu verzeichnen. Die Hemmung nimmt im Schwachlichtbereich, bis $1 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, ebenso wie im Starklichtbereich, bis $850 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, bis auf ca. 85 % linear zu.

PCP:

Es wurde eine Konzentration von 0,05 ppm PCP ausgewählt, da sie gerade ausreicht, um den max. Einfluß auf die O_2 -Bruttoproduktion auszuüben (vgl. Kap. IV.1.2.1.3.A., Abb. 40). Einflüsse unter 10 % liegen schon zu nahe am Bereich möglicher Meßfehler.

Die Aufteilung des Kurvenverlaufes (Abb. 61) in zwei Funktionen aufgrund der Werteverteilung führt zu folgendem Ergebnis:

(A) $0,88 - 4,8 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = -86,314 + 59,971 \ln x; R = 0,987; t_R = 8,81; N = 4$$
$$(t_{0,05}(2) = 4,30)$$

(B) $4,8 - 890 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 11,180 - 0,0017 x; R = -0,233; t_R = 0,79; N = 13$$
$$(t_{0,05}(11) = 2,20)$$

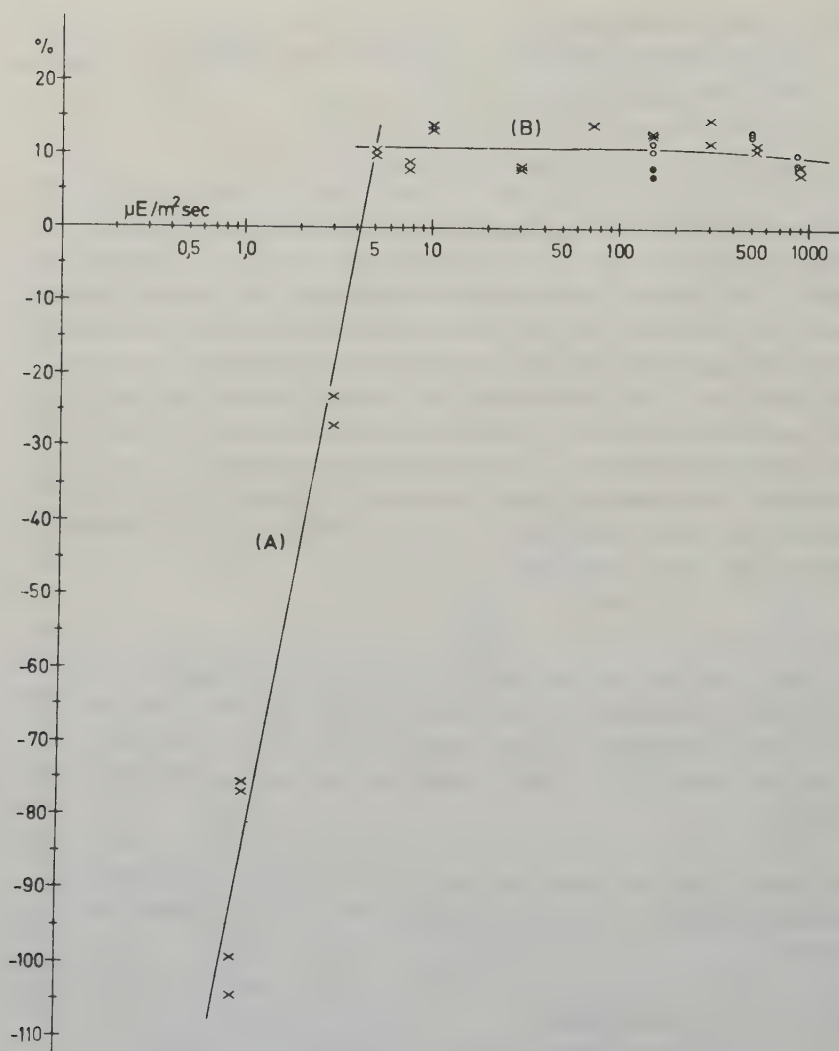


Abb. 61. Einfluß von 0,05 ppm PCP auf die berechnete O₂-Bruttoproduktion unter verschiedenen Lichtstärken (s. Text).

Für 0,05 ppm PCP bestätigt sich in einem großen Lichtstärkebereich die fördernde Wirkung auf die O_2 -Bruttoproduktion um ca. 10 %. Der von Null nicht signifikant verschiedene, sehr niedrige Korrelationskoeffizient, Funktion (B), bestätigt diese gleichbleibende Produktionszunahme für den Bereich von 4,8 - 890 $\mu E/m^2sec$. Der t-Test bestätigt außerdem, daß der Mittelwert aller Meßwerte in diesem Bereich (10,7 %) signifikant von Null verschieden ist ($t_{für 0} = 4,61$; $t_{0,05(12)} = 2,18$), d.h. die produktionsfördernde Wirkung ist signifikant nachgewiesen.

Unter 4,8 $\mu E/m^2sec$ schlägt die fördernde Wirkung in eine starke Hemmung um (A). Bei 0,88 $\mu E/m^2sec$ war keine O_2 -Bruttoproduktion mehr nachweisbar.

Zusammenfassend:

Die Beeinflussung der O_2 -Bruttoproduktion durch 0,2 ppm Atrazin unterliegt unter 50 $\mu E/m^2sec$ und über 400 $\mu E/m^2sec$ erheblichen lichtstärkeabhängigen Veränderungen. Die durchschnittliche Hemmung von 25 % zwischen 50 und 400 $\mu E/m^2sec$ erhöht sich in den Randbereichen (1 und 850 $\mu E/m^2sec$) auf ca. 85 %.

Die fördernde Wirkung durch 0,05 ppm PCP um ca. 10 % schlägt erst unter 4,8 $\mu E/m^2sec$ in eine starke Hemmung um.

Auf einen möglichen Zusammenhang dieser Ergebnisse zur Veränderung der Wachstumsraten sollen die nächsten Kapitel hinweisen.

IV.1.2.2.2. Wachstumsrate

Bei den O_2 -Produktionsversuchen bei verschiedenen Lichtstärken mit Atrazin bzw. PCP wurden zur Ermittlung der Wachstumsrate die Zelldichte, aktives Chlorophyll a und bei Atrazin zusätzlich die Chlorophyll-Fluoreszenz bestimmt.

a) Zelldichte:

In Abb. 62 sind die Wachstumsraten, ermittelt durch Zelldichtebestimmung, in den Hell-Flaschen ohne Chemikalienzu-

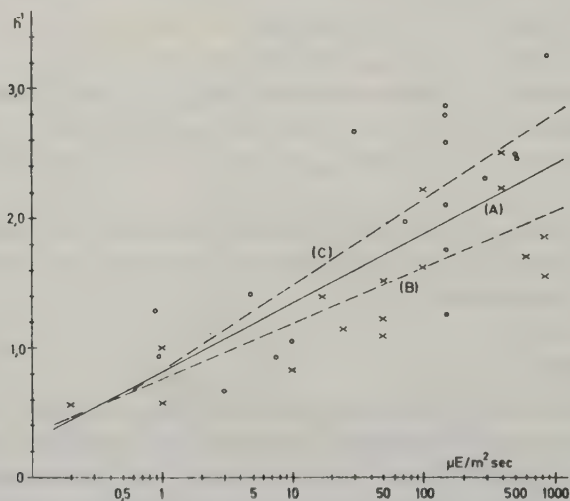


Abb. 62. Wachstumsraten, berechnet aus der Zelldichteveränderung, ohne Xenobiotikaeinfluß bei verschiedenen Lichtstärken (s. Text). x: Werte aus der Atrazin-Testserie (B); o: Werte aus der PCP-Testserie (C).

satz dargestellt (**Kontrollwerte**). Funktion (A) ist die Gesamtfunktion aus allen Werten der PCP- und Atrazin-Versuchsreihen:

$$(A): y = 0,817 + 0,230 \ln x; R = 0,740; t_R = 6,32; N = 35 \\ (t_{0,05(33)} = 2,03)$$

Funktion (B) beinhaltet die alleinigen Ergebnisse aus der Atrazin-Versuchsreihe:

$$(B): y = 0,754 + 0,184 \ln x; R = 0,821; t_R = 5,57; N = 17 \\ (t_{0,05(15)} = 2,13)$$

Funktion (C) beschreibt die alleinigen Ergebnisse aus der PCP-Versuchsreihe:

$$(C): y = 0,832 + 0,284 \ln x; R = 0,789; t_R = 5,14; N = 18$$

$$(t_{0,05}(16) = 2,12)$$

Die Steigungen der Regressionsfunktionen aus den Kontrollwerten der Atrazin- und PCP-Versuchsreihen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander:

$$t_b(B,C) = 1,58(t_{0,05}(31) = 2,04)$$

Um die Einflüsse der Testchemikalien auf die Wachstumsraten abschätzen zu können, ist es sicher besser, die bei der jeweiligen Versuchsreihe entstandene Funktion (B) bzw. (C) für die vergleichende Betrachtung heranzuziehen, da sie den jeweiligen Verhältnissen der verwendeten Chemostatkulturen am besten entspricht, auch wenn sich (B) und (C) statistisch nicht voneinander unterscheiden.

Die unter dem Einfluß von 0,2 ppm Atrazin entstandenen Werte der Wachstumsraten sind mit einer einzigen Funktion nur unbefriedigend zu beschreiben (Abb. 63):

$$(A): y = 0,247 + 0,231 \ln x; R = 0,777; t_R = 4,78; N = 17$$

Die Werteverteilung deutet auf einen dreigeteilten Funktionsverlauf hin:

$$(B) \ 0,2 - 25 \ \mu E/m^2 sec:$$

$$y = 0,357 + 0,068 \ln x; R = 0,828; t_R = 2,95; N = 6$$

$$(t_{0,05}(4) = 2,78)$$

$$(C) \ 10 - 400 \ \mu E/m^2 sec:$$

$$y = -1,080 + 0,557 \ln x; R = 0,940; t_R = 8,23; N = 11$$

$$(t_{0,05}(9) = 2,26)$$

$$(D) \ 400 - 850 \ \mu E/m^2 sec:$$

$$y = 10,415 - 1,340 \ln x; R = -0,953; t_R = 5,44; N = 5$$

$$(t_{0,05}(3) = 3,18)$$

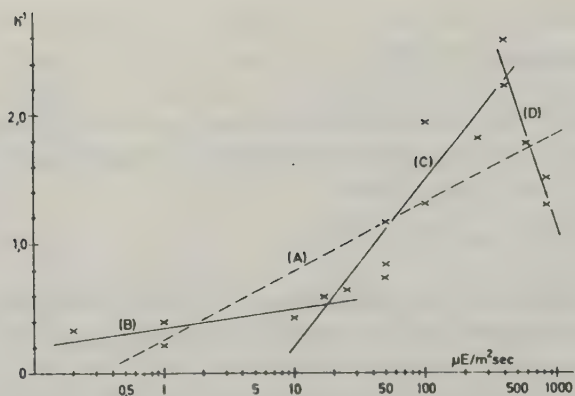


Abb. 63. Wachstumsraten, berechnet aus der Zelldichteveränderung, unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin bei verschiedenen Lichtstärken (s. Text).

Der aus diesen drei Teilen zusammengesetzte Funktionsverlauf zeigt ein nur langsames Ansteigen der Wachstumsraten im schwachen Licht, dem ein deutlicher Anstieg bis zur Lichtstärke von 400 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ folgt. Eine weitere Erhöhung der Lichtstärke hat eine Verringerung der Wachstumsrate zur Folge. Alle drei Teilfunktionen sind durch signifikante Korrelationskoeffizienten ausgezeichnet, die alle größer sind als bei der Gesamtfunktion (A).

Zur Verdeutlichung des Atrazineinflusses ist in Abb. 64 die prozentuale Veränderung der Wachstumsraten unter dem Einfluß von Atrazin in Abhängigkeit von der Lichtstärke aufgetragen. Auch hier scheint eine Dreiteilung des Kurvenverlaufes sinnvoll, auch wenn eine sehr große Streuung der Meßwerte im Schwachlichtbereich, bedingt durch geringe O_2 -Produktionsmengen bei sehr schwachem Licht und daraus resultierender zunehmender Meßungenauigkeit, eine eindeutige Aussage erschwert.

Die Regressionsfunktionen zu Abb. 64 lauten:

(A) 0,2 - 25 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = -49,665 - 0,595 \ln x; R = -0,073; t_R = 0,15; N = 6$$

(B) $10 - 600 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = -91,914 + 15,745 \ln x; R = 0,939; t_R = 8,61; N = 12$$

$$(t_{0,05}(10) = 2,23)$$

(C) $400 - 850 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 22,859 - 0,046 x; R = -0,695; t_R = 1,67; N = 5$$

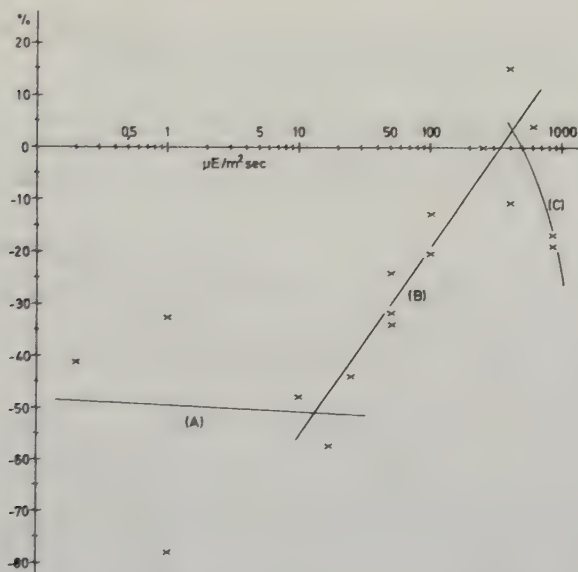


Abb. 64. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten, ermittelt aus der Zelldichteveränderung, unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin bei verschiedenen Lichtstärken (s. Text).

Bis zu einem Lichtstärkebereich von $10 - 20 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ liegt eine lichtunabhängige Hemmung der Wachstumsraten vor. Sie beträgt im Mittel 50,4 % ($s = 15,8$). Trotz sehr hoher Standardabweichung wäre ein Meßwert "Null" signifikant von den gemessenen Werten verschieden ($t_0 = 3,19$; $t_{0,05}(5) = 2,57$). Ab $10 - 20 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ verringert sich die Wachstumshemmung rapide, um in einem Bereich von $300 - 500 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ den Nullpunkt zu erreichen. Die erneute Zunahme der Wachstumshemmung wird nicht durch einen signifikanten Korrelationskoeffizienten (C) getragen, bei $850 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ ist sie aber nicht zu leugnen.

Der Verlauf der Wachstumsraten unter dem Einfluß von 0,05 ppm P C P (Abb. 65) gleicht dem ohne PCP (Abb. 62). Die Steigung der Regressionsfunktion

$$y = 0,746 + 0,264 \ln x; R = 0,787; t_R = 5,10; N = 18$$

ist von der Steigung der Funktion (C) Abb. 62 nicht signifikant verschieden: $t_b = 0,27$ ($t_{0,05}(32) = 2,04$).

Der y-Wert bei $1 \mu E/m^2 sec$ ist nur ca. 10 % niedriger.

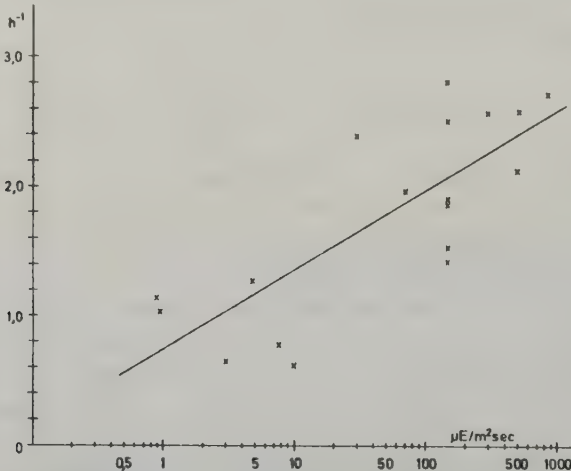


Abb. 65. Wachstumsraten, berechnet aus der Zelldichteveränderung, unter Einfluß von 0,05 ppm PCP bei verschiedenen Lichtstärken.

Die prozentualen Veränderungen der Wachstumsraten (Abb. 66) bestätigen, daß keine signifikante Abhängigkeit von der Lichtstärke besteht:

$$y = -9,037 + 0,317 \ln x; R = 0,048; t_R = 0,19; N = 18$$

Daß die Funktion stets im Hemmungsbereich verläuft, reicht bei einer durchschnittlichen Hemmung von 7 - 9 % und der großen

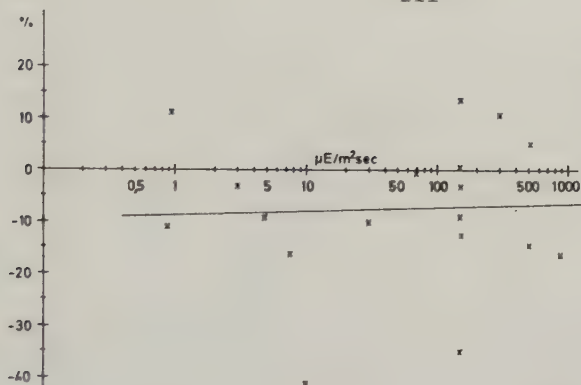


Abb.66. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten, ermittelt aus der Zelldichteänderung, unter Einfluß von 0,05 ppm PCP bei verschiedenen Lichtstärken.

Streuung der Meßpunkte nicht aus, eine lichtunabhängige Wachstumshemmung durch 0,05 ppm PCP als erwiesen anzusehen.

b) Aktives Chlorophyll a

Abb. 67 enthält die **Kontrollwerte** der Wachstumsraten in den Hell-Flaschen der Atrazin (B)- und PCP (C)-Versuchsreihe. Funktion (A) ist die Zusammenfassung aller Meßwerte:

$$(A): y = 2,962 - 0,0041 x; R = - 0,925; t_R = 14,20; N = 36 \\ (t_{0,05(34)} = 2,03)$$

(B) Atrazin-Versuchsreihe:

$$y = 2,868 - 0,0045 x; R = - 0,946; t_R = 11,67; N = 18 \\ (t_{0,05(16)} = 2,12)$$

(C) PCP-Versuchsreihe:

$$y = 3,058 - 0,0037 x; R = - 0,933; t_R = 10,37; N = 18$$

Die Steigungen der Funktionen (B) und (C) sind nicht signifikant voneinander verschieden: $t_b = 1,53$ ($t_{0,05(32)} = 2,04$).

Der Verlauf der Funktionen ist von einem konstant bleibenden Niveau im Schwachlichtbereich geprägt. Ab 50 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ nehmen die Wachstumsraten drastisch ab, um bei 600 - 800 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ in den Negativbereich überzugehen, d.h. der Chlorophyllabbau übertrifft den Chlorophyllzuwachs.

Für die weitere Betrachtung der PCP- bzw. Atrazineinflüsse werden aus den anfangs genannten Gründen, die jeweils zu den Versuchsreihen gehörenden Werte und Funktionen verwendet.

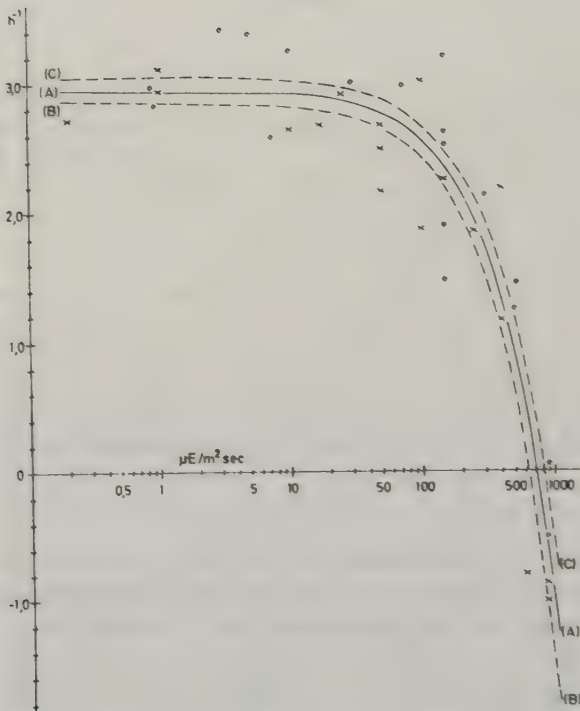


Abb. 67. Wachstumsraten, berechnet aus der Veränderung der Konzentration an aktivem Chlorophyll a, ohne Xenobiotikaeinfluß bei verschiedenen Lichtstärken (s. Text). x: Werte aus der Atrazin-Testserie (B); o: Werte aus der PCP-Testserie (C).

Abb. 68 zeigt, daß sich die Funktion der Chlorophyll a-Wachstumsraten unter dem Einfluß von 0,2 ppm Atrazin in ihrem Verlauf ähnlich verhält wie ohne Atrazin (Abb. 67 B). Die Schnittpunkte mit der y-Achse sind fast identisch, die Steigungen jedoch unterscheiden sich signifikant voneinander.

Abb. 68: $y = 2,886 - 0,0060 x$; $R = - 0,974$; $t_R = 17,20$; $N = 18$
 $t_b(\text{Abb. 68 zu 67 B}) = 2,81$ ($t_{0,05(32)} = 2,04$).

Die Funktion "mit Atrazin" kreuzt die x-Achse bei knapp $500 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ und die Funktion "ohne Atrazin" bei über $600 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$. Daß sich dieser "kleine" Unterschied in der prozentualen Differenz der beiden Wertegruppen sehr deutlich auswirkt, zeigt Abb. 69:

$y = 6,577 - 0,151 x$; $R = - 0,951$; $t_R = 12,30$; $N = 18$

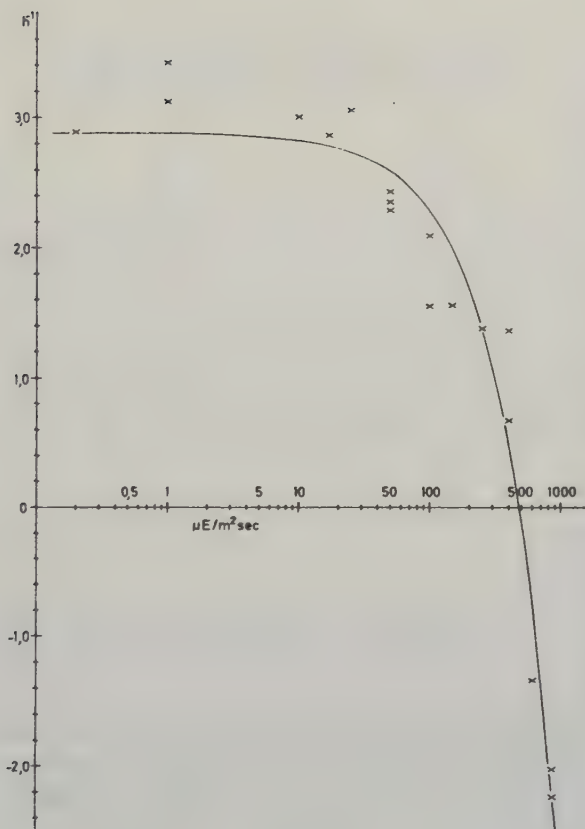


Abb. 68. Wachstumsraten, berechnet aus der Veränderung der Konzentration an aktivem Chlorophyll a, unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin bei verschiedenen Lichtstärken.

Dieser Funktionsverlauf beschreibt eine geringe Förderung der Wachstumsraten bei Lichtstärken unter $50 \mu E/m^2 sec$, eine drastisch zunehmende Hemmung dagegen über diesem Wert.

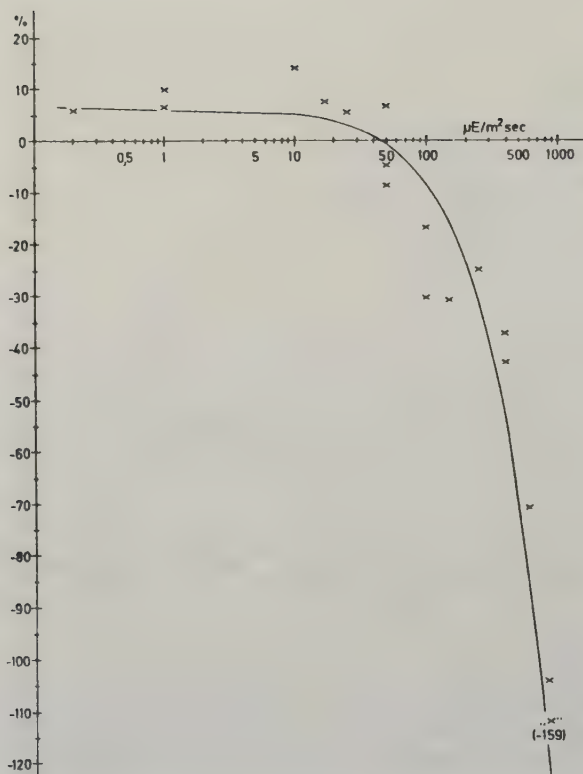


Abb. 69. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten, ermittelt aus der Veränderung der Konzentration an aktivem Chlorophyll a, unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin bei verschiedenen Lichtstärken.

Die unter Einfluß von 0,05 ppm P C P bestimmten Wachstumsraten deuten auf eine Zweiteilung des Funktionsverlaufes hin (Abb. 70):

(A) 0,88 - 4,8 $\mu E/m^2 sec$:

$$y = 1,447 + 1,127 \ln x; R = 0,804; t_R = 1,91; N = 4$$

$$(t_{0,05}(2) = 4,30)$$

(B) 4,8 - 890 $\mu E/m^2 sec$:

$$y = 2,982 - 0,0040 x; R = -0,919; t_R = 8,40; N = 15$$

$$(t_{0,05}(13) = 2,16)$$

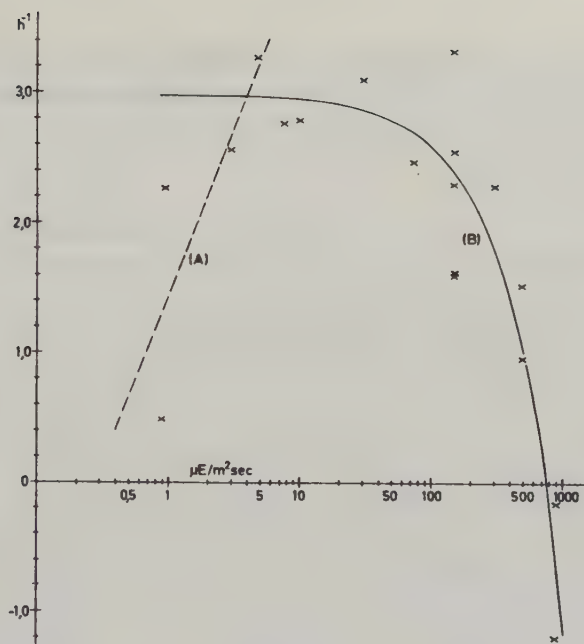


Abb. 70. Wachstumsraten, berechnet aus der Veränderung der Konzentration an aktivem Chlorophyll a, unter Einfluß von 0,05 ppm PCP (s. Text).

Die eine Abnahme der Wachstumsraten unter $4,8 \mu E/m^2 sec$ beschreibende Funktion (A) hat keinen signifikanten Korrelationskoeffizienten. Es darf aber trotzdem nicht übersehen werden, daß eine Tendenz zur Abnahme der Wachstumsraten in diesem Lichtstärkebereich vorliegt. Werden diese Meßpunkte unter $4,8 \mu E/m^2 sec$ nicht zur Berechnung der Gesamtfunktion herangezogen, so resultiert die "Restfunktion" (B). Diese Funktion ist in ihrer Steigung nicht signifikant verschieden von der Steigung der PCP-Kontrollfunktion (C) in Abb. 67 ($t_b = 0,53$; $t_{0,05}(29) = 2,05$), der Schnittpunkt mit der y-Achse liegt nur 2,5 % niedriger als bei der genannten Funktion.

Die vergleichende Darstellung als "prozentuale Veränderung der Wachstumsraten" (Abb. 71) bringt keine weiteren Aufschlüsse darüber, ob eine Hemmung unter $4,8 \mu E/m^2 sec$ besteht oder

nicht. Unter Berücksichtigung der allgemein großen Streuung der Meßwerte ist es nur der Meßpunkt bei $0,88 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, der eine Zweiteilung der Funktion rechtfertigen kann:

(A) $0,88 - 4,8 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = -50,950 + 28,375 \ln x; R = 0,687; t_R = 1,34; N = 4$$

(B) $4,8 - 500 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = -3,188 - 0,089 \ln x; R = -0,010; t_R = 0,03;$$

$$N = 13 \quad (t_{0,05(11)} = 2,20)$$

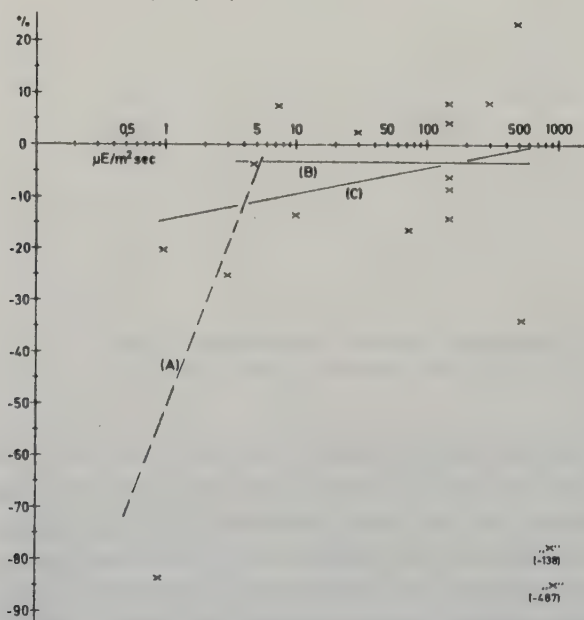


Abb. 71. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten, ermittelt aus der Veränderung der Konzentration an aktivem Chlorophyll a, unter Einfluß von $0,05 \text{ ppm PCP}$ (s. Text).

Der Korrelationskoeffizient der Funktion (A) bestätigt eine Lichtabhängigkeit in diesem Bereich nicht. Funktion (B) zeigt, daß $0,05 \text{ ppm PCP}$ ab $5 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ keinen nachweisbar hemmenden Einfluß auf die durch Chlorophyll a-Bestimmung ermittelte Wachstumsrate haben.

Betrachtet man den Meßwert bei $0,88 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ als Ausreißer, was nicht unwahrscheinlich erscheint, so besagt die Gesamtfunktion, daß im gesamten Lichtstärkebereich bis $500 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ keine signifikante Abhängigkeit der PCP-Wirkung besteht:

(C) Gesamtfunktion bis $500 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = -14,666 + 2,221 \ln x; R = 0,293; t_R = 1,11; N = 15$$

Die Werte bei 860 und $890 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ sind bisher von der Betrachtung ausgenommen worden. Sie liegen bei $-138,2 \%$ bzw. $-486,7 \%$. Die sehr geringen oder bereits negativen Wachstumsraten bei dieser Lichtstärke werden dahingehend verändert, daß der Chlorophyllabbau den Aufbau bei weitem übertrifft.

c) Chlorophyll-Fluoreszenz:

Das Gerät zur Chlorophyll-Fluoreszenzmessung stand z.Zt. der

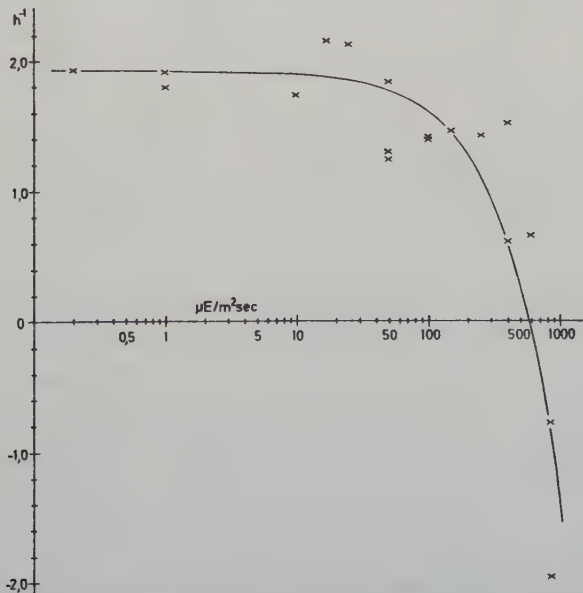


Abb. 72. Wachstumsraten, berechnet aus der Veränderung der Chlorophyll-Fluoreszenz, ohne Xenobiotikaeinfluß.

PCP-Lichtversuchsreihe nicht zur Verfügung, weshalb nur Werte für die Atrazin-Versuchsreihe vorliegen.

Abb. 72 zeigt die bei Chlorophyll-Fluoreszenzmessung ermittelten **Kontrollwerte** der Wachstumsrate.

Abb. 72: $y = 1,933 - 0,0033 x$; $R = - 0,904$; $t_R = 8,46$;
 $N = 18$ ($t_{0,05}(16) = 2,12$)

Der Schnittpunkt mit der x-Achse liegt im Bereich von $600 \mu E/m^2 sec$, bei höherer Lichtstärke überwiegt im Verlauf der Versuchsdauer auch ohne Xenobiotikaeinfluß der Chlorophyllabbau gegenüber der Chlorophyllzunahme.

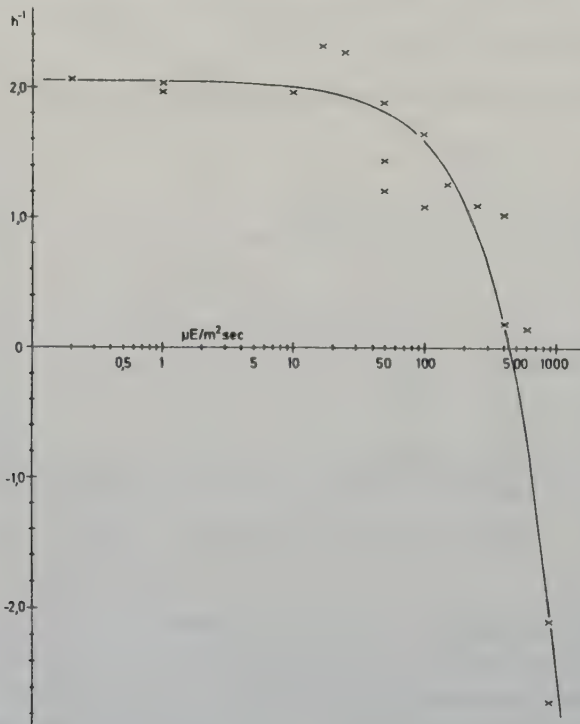


Abb. 73. Wachstumsraten, berechnet aus der Veränderung der Chlorophyll-Fluoreszenz, unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin.

Die Zugabe von 0,2 ppm Atrazin scheint auf den ersten Blick keinen sehr großen Einfluß auf die Wachstumsraten zu haben (Abb. 73):

$$y = 2,054 - 0,0047 x; R = - 0,950; t_R = 12,17; N = 18$$

Die max. Wachstumsrate (= Schnittpunkt mit der y-Achse) ist ca. 6 % höher als ohne Atrazin. Entscheidend ist jedoch die im Betrag größere Steigung der "Atrazin-Funktion". Die Steigungen

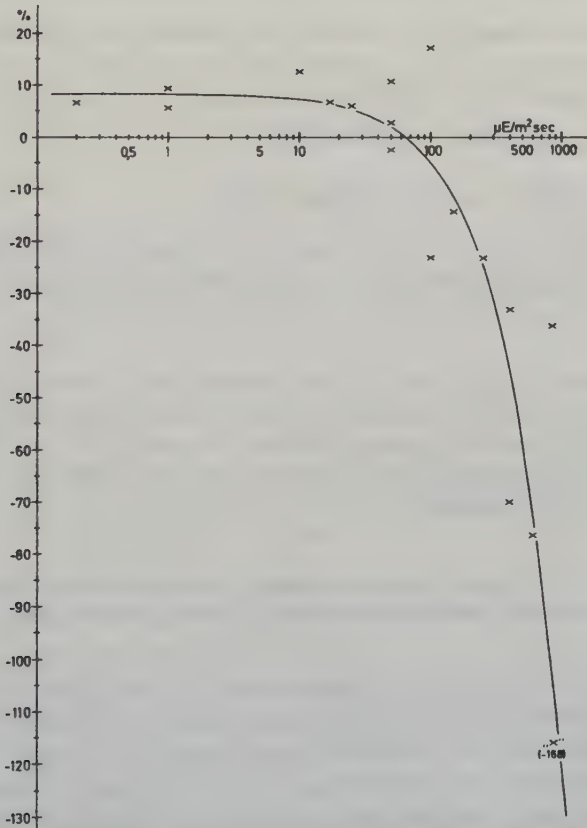


Abb. 74. Prozentuale Veränderung der Wachstumsraten, ermittelt aus der Veränderung der Chlorophyll-Fluoreszenz, unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin.

der "Mit-" (Abb. 73) und "Ohne-Atrazin-Funktion" (Abb. 72) unterscheiden sich signifikant voneinander: $t_b = 2,42$
($t_{0,05(32)} = 2,04$).

Die Bedeutung dieser unterschiedlichen Steigungen ist in den prozentualen Differenzen zwischen den Meßwerten mit und ohne Atrazin sichtbar (Abb. 74):

$$y = 8,876 - 0,135 x; R = - 0,842; t_R = 6,24; N = 18$$

Der Funktionsverlauf gibt eine leichte Wachstumsförderung unter $50 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ wieder, darüber wird die Zunahme der Chlorophyll-Fluoreszenz ganz erheblich gehemmt, bzw. der Abbau des Chlorophylls erheblich gesteigert.

d) Zusammenfassung der Ergebnisse (a-c):

Die Bestimmung der **Z e l l d i c h t e** führt zu dem Ergebnis, daß die **Kontrollwerte** der Wachstumsraten mit zunehmender Lichtstärke ansteigen.

Dieser Anstieg wird durch $0,2 \text{ ppm}$ **Atrazin** bei Lichtstärken bis $25 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ um ca. 50 % gehemmt. Bei $25 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ beginnend, nähert sich die Wachstumsrate im Bereich von $300 - 600 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ wieder den Kontrollwerte. Bei $850 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ ist die Wachstumsrate um 15 - 20 % reduziert.

$0,05 \text{ ppm}$ **P C P** verändern im gesamten Lichtstärkebereich den "normalen" Anstieg der Wachstumsraten nicht nachweisbar.

Die **C h l o r o p h y l l** bestimmungen führen schon in den Kontrollversuchen zu völlig anderen Funktionsverläufen für die Wachstumsraten als die Zelldichtebestimmung. Ein endgültiges Ergebnis kann erst im Zusammenhang mit dem folgenden Kapitel über die Veränderungen des Zellchlorophyllgehaltes erarbeitet werden, woraus sich auch Rückschlüsse darauf ergeben sollen,

warum die verschiedenen Chlorophyllbestimmungsmethoden zu sehr unterschiedlichen absoluten Wachstumsraten (Abb. 67 und 72) führen.

IV.1.2.2.3. Chlorophyllgehalt der Algenzellen

a) Aktives Chlorophyll a pro Zelle:

Die prozentualen Änderungen des Chlorophyllgehaltes pro Zelle in den Hell-Flaschen während der **Kontrollversuchsdauer** von 48 h sind in Abhängigkeit von der Lichtstärke in Abb. 75 dargestellt.

Es sind sowohl die Werte aus der Atrazin-Versuchsreihe als auch der PCP-Versuchsreihe eingetragen.

Bei Betrachtung der Punkteverteilung liegt es nahe, die Gesamtfunktion in zwei Teile zu zerlegen: $0,2 - 10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ und $10 - 890 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$. Im Schwachlichtbereich bis $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ verhält sich die Chlorophyllzunahme in den Zellen dem Licht gegenüber ziemlich indifferent:

Abb. 75:

$0,2 - 10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$

(A₁) Kontrollwerte aus der Atrazin- und PCP-Versuchsreihe:

$$y = 165,413 - 2,883 \ln x; R = - 0,321; t_R = 0,90;$$

$$N = 9 \quad (t_{0,05}(7) = 2,36)$$

(B₁) Kontrollwerte aus der Atrazin-Versuchsreihe:

$$y = 179,047 - 12,099 \ln x; R = - 0,674; t_R = 1,29;$$

$$N = 4 \quad (t_{0,05}(2) = 4,30)$$

(C₁) Kontrollwerte aus der PCP-Versuchsreihe:

$$y = 137,627 + 9,158 \ln x; R = - 0,380; t_R = 0,71;$$

$$N = 5 \quad (t_{0,05}(3) = 3,18)$$

Die beiden gegensätzlichsten Funktionen (B₁) und (C₁) unterscheiden sich in ihren Steigungen nicht signifikant voneinander: $t_b = 1,33 \quad (t_{0,05}(5) = 2,57)$.

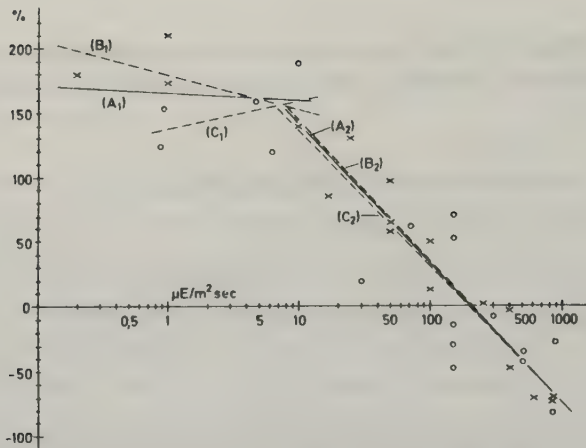


Abb. 75. Prozentuale Veränderung des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a pro Zelle während der Testdauer (48 h) in Abhängigkeit von der Lichtstärke ohne Xenobiotika-Einfluß. o: PCP-Testserie; x: Atrazin-Testserie (s. Text).

Die Zunahme des Zellchlorophyllgehaltes in diesem Lichtstärkebereich während der Versuchsdauer von 48 h beträgt im Durchschnitt 161 % (s = 31).

Die Einzelfunktionen von 10 - 890 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ der aus der PCP-Versuchsreihe (C₂) bzw. Atrazin-Versuchsreihe (B₂) stammenden Kontrollwerte sind mit der Gesamtfunktion (A₂) aus beiden Versuchsreihen fast deckungsgleich.

10 - 890 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$(A_2): y = 249,737 - 46,941 \ln x; R = -0,901; t_R = 10,39; \\ N = 27 (t_{0,05}(25) = 2,06)$$

$$(B_2): y = 255,176 - 47,833 \ln x; R = -0,961; t_R = 12,04; \\ N = 14 (t_{0,05}(12) = 2,18)$$

$$(C_2): y = 240,289 - 45,351 \ln x; R = -0,822; t_R = 4,79; \\ N = 13 (t_{0,05}(11) = 2,20)$$

Über 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ nimmt die Zunahme des Chlorophyllgehaltes ab. Bei ca. 200 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ bleibt der Chlorophyllgehalt der Zellen

während der Testdauer konstant, bei darüberliegenden Lichtstärken nimmt er bis zum Versuchsende ab, bei $900 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ um ca. 70 % vom Ausgangswert.

Zum Vergleich mit den Chlorophyll a-Mengen pro Zelle unter dem Einfluß der Testsubstanzen sollen die Funktionen (B_1/B_2) bzw. (C_1/C_2) herangezogen werden, da die Algenkulturen in den jeweiligen Versuchsreihen, auf Grund der kurzen zeitlichen Aufeinanderfolge zu den Versuchen mit den Testsubstanzen, sich in ihren physiologischen Bedingungen am ähnlichsten sind.

Unter dem Einfluß vom 0,2 ppm Atrazin (Abb. 76) ist die im Schwachlichtbereich bis $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ zu verzeichnende Erhöhung des Chlorophyllgehaltes der Zellen ebenso wie die Kontrolle nicht signifikant von der Lichtstärke abhängig. Der Chlorophyllgehalt nimmt innerhalb von 48 h um durchschnittlich 271 % ($s = 38$) zu. Über $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ fällt diese Zunahme stark ab, bei 200 - 250 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ bleibt der Chlorophyllgehalt während der Testdauer unverändert und bei 800 - 900 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ wird er völlig abgebaut.

Abb. 76:

(A) 0,2 - 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 270,754 - 1,032 \ln x; R = -0,044; t_R = 0,06; N = 4$$

(B) 10 - 890 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 420,391 - 78,166 \ln x; R = -0,975; t_R = 15,20; N = 14$$

Die Steigungen der Funktionen mit und ohne Atrazin im Bereich von 0,2 - 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ (Abb. 75 (B_2) und Abb. 76 (A)) unterscheiden sich nicht signifikant von einander: $t_b = 0,58$ ($t_{0,05(4)} = 2,78$). Die durchschnittliche Erhöhung des Chlorophyllgehaltes der Zellen unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin in diesem Lichtstärkebereich um 271 % ist signifikant verschieden von der durchschnittlichen Steigerung des Zellchlorophyllgehaltes in den Kontrollen der Atrazin-Versuchsreihe um 177 % ($s = 29$): $t_{\bar{x}} = 3,95$ ($t_{0,05(6)} = 2,45$). 0,2 ppm Atrazin erhöhen

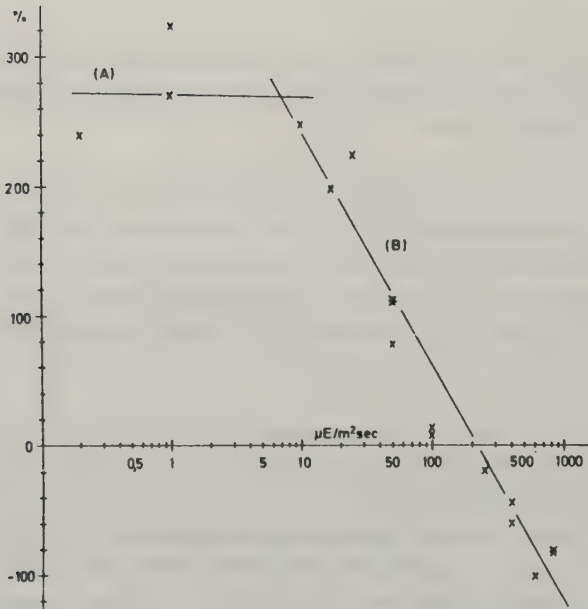


Abb.76. Prozentuale Veränderung des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a pro Zelle während der Testdauer (48 h) in Abhängigkeit von der Lichtstärke unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin (s. Text).

demzufolge im Lichtstärkebereich von 0,2 - 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ den Zuwachs an aktivem Chlorophyll a pro Zelle um durchschnittlich 53 %.

Die Steigungen der Funktionen mit und ohne Atrazin im Bereich von 10 - 890 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ (Abb. 75 (B_2) und Abb. 76 (B)) sind signifikant voneinander verschieden: $t_b = 4,64$ ($t_{0,05}(24) = 2,06$). Die "Atrazinfunktion" schneidet ebenso wie die Kontrollfunktion die x-Achse bei knapp über 200 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, d.h. bei dieser Lichtstärke bleibt, ob mit oder ohne Atrazin, der Chlorophyllgehalt der Zellen unverändert. Bei 800 - 900 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ dagegen wird unter Atrazineinfluß das aktive Chlorophyll a völlig abgebaut, ohne Atrazineinfluß nur zu 70 %.

Die durch Hinzugabe von 0,05 ppm P C P entstandenen Werte für die Veränderung des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a in den Zellen sind in Abb. 77 aufgetragen. Um den Funktionsver-

lauf mit den Kontrollergebnissen vergleichen zu können, wird er ebenfalls bei $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ geteilt:

(A) $0,88 - 10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 41,781 + 66,581 \ln x; R = 0,873; t_R = 3,58; N = 6$$

$$(t_{0,05}(4) = 2,78)$$

(B) $10 - 890 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 247,003 - 45,924 \ln x; R = -0,817; t_R = 4,71;$$

$$N = 13$$

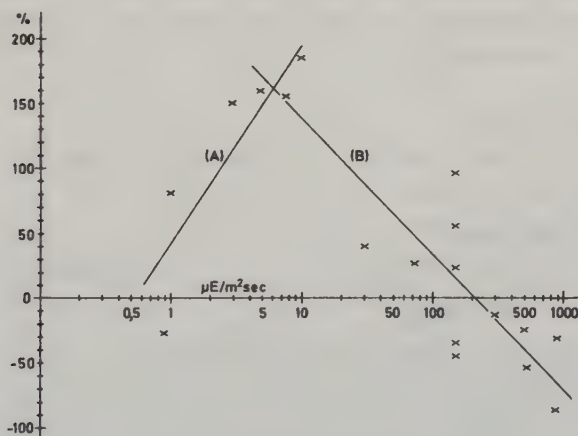


Abb. 77. Prozentuale Veränderung des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a pro Zelle während der Testdauer (48 h) in Abhängigkeit von der Lichtstärke unter Einfluß von 0,05 ppm PCP (s. Text).

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Funktionen ist hier die Funktion (A) im Bereich von $0,88 - 10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ keineswegs lichtstärkeunabhängig. Mit einem signifikant von Null verschiedenen Korrelationskoeffizienten zeigt sie, daß in diesem Schwachlichtbereich mit abnehmender Lichtstärke die Chlorophyllzunahme in den Zellen unter PCP-Einfluß deutlich abnimmt; bei $1 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ nimmt der Chlorophyllgehalt während der Versuchszeit nur noch um ca. 40 % zu, gegenüber ca. 140 % bei den Kontrollen (Abb. 75 (C₁)). Funktion (B), im Lichtstärkebereich bis $890 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, verläuft hingegen fast deckungsgleich mit

der Funktion (C₂) in Abb. 75. Der Schnittpunkt der beiden Funktion (A) und (B) liegt bei 6,2 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$. Über diesem Wert haben 0,05 ppm PCP also keinen signifikanten Einfluß auf die lichtabhängige Veränderung des Gehaltes an aktivem Chlorophyll a in den Algenzellen.

b) Chlorophyll-Fluoreszenz (nur Atrazin-Versuchsreihe, vgl. Kap. I.2.2.2.):

Die mit Hilfe der Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen festgestellten Veränderungen des Chlorophyllgehaltes der Algenzellen der **Kontrollen** zeigt Abb. 78. Auch hier wird der Funktionsverlauf zweigeteilt:

(A) 0,2 - 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 72,315 - 9,031 \ln x; R = -0,789; t_R = 1,82; N = 4$$

$$(t_{0,05}(2) = 4,30)$$

(B) 10 - 850 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 129,274 - 29,258 \ln x; R = -0,931; t_R = 8,84;$$

$$N = 14 (t_{0,05}(12) = 2,18)$$

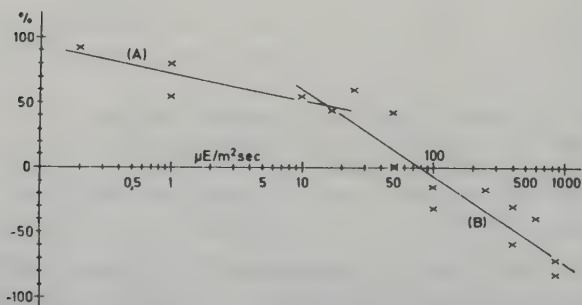


Abb. 78. Prozentuale Veränderung des Chlorophyllgehaltes der Zellen, gemessen durch Chlorophyll-Fluoreszenz, ohne Xenobiotikaeeinfluß in Abhängigkeit von der Lichtstärke (s. Text).

Funktion (A) ist nicht signifikant abhängig von der Lichtstärke. Die durchschnittliche Erhöhung des Chlorophyllgehaltes in

diesem Lichtstärkebereich beträgt 71 % ($s = 18$). Der Verlauf der Funktion (B) ist durch einen signifikanten Korrelationskoeffizienten gekennzeichnet. Der Chlorophyllgehalt bleibt bei $80 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ während der Testdauer konstant, bei $850 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ wird er um ca. 70 % verringert.

Bei Zugabe von 0,2 ppm Atrazin (Abb. 79) erhöht sich die Chlorophyllzunahme im Schwachlichtbereich unter $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ gegenüber der Zunahme ohne Atrazin. Die Funktion ist auch hier nicht signifikant lichtabhängig:

(A) $0,2 - 10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 122,990 - 5,570 \ln x; R = -0,662; t_R = 1,25; N = 4$$

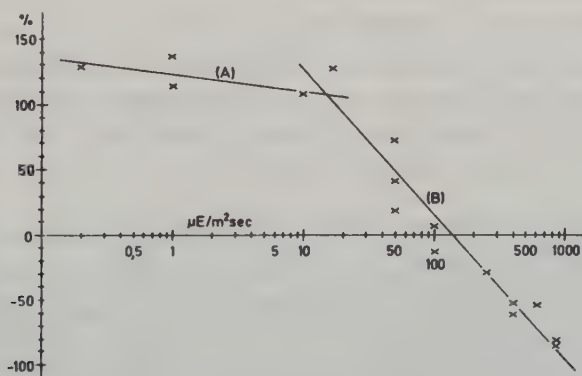


Abb. 79. Prozentuale Veränderung des Chlorophyllgehaltes der Zellen, gemessen durch Chlorophyll-Fluoreszenz, unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin in Abhängigkeit von der Lichtstärke.

Die durchschnittliche Erhöhung des Chlorophyllgehaltes beträgt in diesem Lichtstärkebereich 122 % ($s = 13,5$) vom Ausgangsgehalt und unterscheidet sich signifikant von der durchschnittlichen Erhöhung ohne Atrazin (71 %): $t_{\bar{x}} = 4,49$ ($t_{0,05(4)} = 2,78$). Damit liegt die Zunahme des Chlorophyllgehaltes unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin durchschnittlich 72 % höher als ohne Atrazineinfluß.

Funktion (B) (Abb. 79) verläuft in eindeutiger Abhängigkeit von der zunehmenden Lichtstärke:

(B) $10 - 850 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 240,661 - 48,740 \ln x; R = - 0,964; t_R = 12,56; N = 14$$

Die Lichtstärke, die zu keiner Änderung des Chlorophyllgehaltes der Zellen bei einer Konzentration von 0,2 ppm Atrazin führt, ist $140 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$. Bei $850 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ verringert sich der Chlorophyllgehalt um 80 - 85 % vom Ausgangswert. Der Funktionsverlauf ist steiler als der Verlauf der Funktion ohne Atrazineinwirkung; die Steigungen unterscheiden sich signifikant voneinander : $t_b = 4,64$ ($t_{0,05}(24) = 2,06$).

c) Zusammenfassung der Ergebnisse (a und b):

Die Ergebnisse der Kontrollversuche zeigen die Abhängigkeit des Zellchlorophyllgehaltes von der einwirkenden Lichtstärke. Die beiden Bestimmungsmethoden liefern tendenziell die gleichen, in Absolutzahlen jedoch unterschiedliche Ergebnisse.

Aktives Chlorophyll a:

Zwischen 0,2 und $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ wird der Zellchlorophyllgehalt in den **Kontrollen** der Atrazin-Versuchsreihe durchschnittlich um 177 % vom Ausgangswert erhöht; über $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ nimmt die Chlorophyllzunahme schnell ab, bei ca. $200 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ bleibt der Zellchlorophyllgehalt während der Versuchszeit konstant, bei $800 - 900 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ nimmt er um ca. 70 % ab.

0,2 ppm **Atrazin** verändern diesen Verlauf. Zwischen 0,2 und $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ liegt die Chlorophyllzunahme bei durchschnittlich 271 %, das ist 53 % mehr als in den Kontrollen; über $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ nimmt die Chlorophyllzunahme rascher ab; bei $200 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ bleibt der Chlorophyllgehalt wie in den Kontrollen konstant; bei $800 - 900 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ wird das Chlorophyll jedoch völlig abgebaut.

Unter dem Einfluß von 0,05 ppm **PCP** wird der Chlorophyllzuwachs unter ca. $6 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ mit geringer werdender Lichtstärke niedriger; bei $1 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ beträgt er nur noch ca. 40 % während er in den **Kontrollen** der PCP-Versuchsreihe bei 140 % liegt; über ca. $6 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ besteht kein nachweisbarer PCP-Einfluß.

Chlorophyll-Fluoreszenz:

Zwischen 0,2 und $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ wird der Zellchlorophyllgehalt in den **Kontrollen** um durchschnittlich 71 % erhöht; Über $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ sinkt die Chlorophyllzunahme, bis der Chlorophyllgehalt bei ca. $80 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ konstant bleibt; bei $850 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ wird er um ca. 70 % reduziert.

Durch 0,2 ppm **Atrazin** liegt der Chlorophyllzuwachs bei 122 %, 72 % höher als bei den Kontrollen; konstant bleibt der Chlorophyllgehalt bei $140 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$; bei $850 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ wird das Chlorophyll zu 80 - 85 % abgebaut.

Der Verlauf der durch Chlorophyllbestimmung ermittelten Wachstumsraten (vgl. Kap. IV.1.2.2.2.) ist offensichtlich im wesentlichen auf die Veränderungen des Zellchlorophyllgehaltes zurückzuführen. Die durch die zwei verschiedenen Bestimmungsmethoden erhaltenen unterschiedlichen Absolutwerte der Wachstumsraten hängen mit den ebenfalls unterschiedlichen Ergebnissen über den Zuwachs des Zellchlorophyllgehaltes zusammen. Als "echte" Wachstumsraten können aufgrund dieser Ergebnisse nur die durch Zelldichtebestimmung berechneten Wachstumsraten angesehen werden. Inwieweit Veränderungen dieser Wachstumsraten Einfluß auf die Veränderungen der O_2 -Bruttoproduktion haben können, soll in der abschließenden Zusammenfassung der Ergebnisse zu dieser Thematik (vgl. Kap. IV.1.2.2.5.) erläutert werden.

Um solche evtl. Einflüsse in der Abschätzung über die lichtstärkeabhängige Beeinflussung der Wirkung von Atrazin und PCP mathematisch auszuschließen, werden im nächsten Kapitel die

"O₂-Bruttoproduktion pro Zelle" und die "Aktivität" (vgl. Kap. II.1.) berechnet und dargestellt.

IV.1.2.2.4. O₂-Bruttoproduktion pro Zelle und Aktivität

Bei Berechnung absoluter O₂-Produktionsmengen/Zelle innerhalb 48 h mit den anschließenden Regressionsfunktionen ist das Ergebnis mit 10⁻⁸ zu multiplizieren.

a) O₂-Bruttoproduktion pro Zelle:

Abb. 80 zeigt die absolute O₂-Bruttoproduktion pro Zelle in den Hell-Flaschen ohne Chemikalienzugabe in Abhängigkeit von der Lichtstärke (**Kontrollwerte**). Auf Grund der Werteverteilung wird der Gesamtverlauf der Funktion in zwei Teilfunktionen unterteilt:

(A₁) 0,2 - 10 µE/m²sec:

$$y = 1,159 + 0,967 x; R = 0,977; t_R = 13,05; N = 10 \\ (t_{0,05}(8) = 2,31)$$

(A₂) 10 - 890 µE/m²sec:

$$y = 11,688 - 0,834 \ln x; R = - 0,599; t_R = 3,43; \\ N = 23 (t_{0,05}(21) = 2,08)$$

Diese beiden Funktionen sind errechnet aus den O₂-Bruttoproduktionswerten pro Alge in den Hell-Flaschen aus den Kontrollen der Atrazin- und PCP-Versuchsreihe. Die Einzelfunktionen aus den Werten der jeweiligen Versuchsreihe sind:

Atrazin-Versuchsreihe:

(B₁) 0,2 - 10 µE/m²sec:

$$y = 0,709 + 0,952 x; R = 0,995; t_R = 14,53; N = 4 \\ (t_{0,05}(2) = 4,30)$$

(B₂) 10 - 890 µE/m²sec:

$$y = 10,896 - 0,573 \ln x; R = - 0,491; t_R = 1,87; \\ N = 13 (t_{0,05}(11) = 2,20)$$

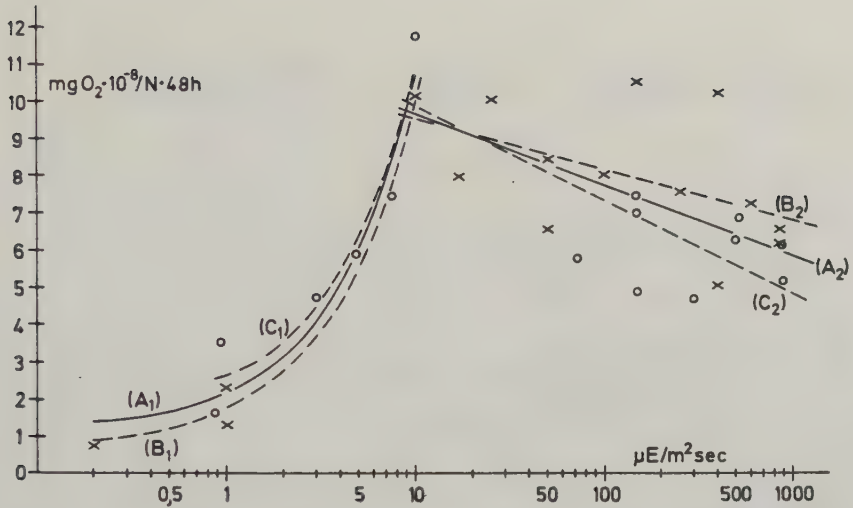


Abb. 80. O_2 -Bruttoproduktion pro Zelle ohne Xenobiotikaeinfluß in Abhängigkeit von der Lichtstärke. x: Atrazin-Versuchsreihe; o: PCP-Versuchsreihe (s. Text).

PCP-Versuchsreihe:

(C₁) 0,88 - 10 $\mu E/m^2sec$:

$$y = 1,620 + 0,938 x; R = 0,970; t_R = 7,93; N = 6$$

$$(t_{0,05}(4) = 2,78)$$

(C₂) 10 - 890 $\mu E/m^2sec$:

$$y = 12,459 - 1,095 \ln x; R = 0,722; t_R = 2,95; N = 10$$

Die Steigungen der Kontrollfunktionen der Atrazin- und PCP-Versuchsreihe sind nicht signifikant voneinander verschieden:

$$t_b(B_1/C_1) = 0,10 \quad (t_{0,05}(6) = 2,45)$$

$$t_b(B_2/C_2) = 1,06 \quad (t_{0,05}(19) = 2,09)$$

Die bei 0,2 $\mu E/m^2sec$ sehr geringe O_2 -Bruttoproduktion von 1 bis 2 $\times 10^{-8}$ mg $O_2/(Zelle \times 48 h)$ steigt bis etwa 10 $\mu E/m^2sec$ auf 9,5 - 10^{-8} mg $O_2/(Zelle \times 48 h)$ rasch an und fällt dann mit weiter zunehmender Lichtstärke langsam auf ca. 6 $\times 10^{-8}$ mg $O_2/(Zelle \times 48 h)$ bei 1000 $\mu E/m^2sec$ ab.

Der Verlauf dieser lichtabhängigen Produktionsveränderung ändert sich grundlegend bei Zugabe von 0,2 ppm Atrazin:

Abb. 81:

(A) $1 - 150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 0,174 + 1,436 \ln x; R = 0,965; t_R = 9,69; N = 9$$

$$(t_{0,05}(7) = 2,36)$$

(B) $150 - 890 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 8,667 - 0,0081 x; R = -0,915; t_R = 5,07; N = 7$$

$$(t_{0,05}(5) = 2,57)$$

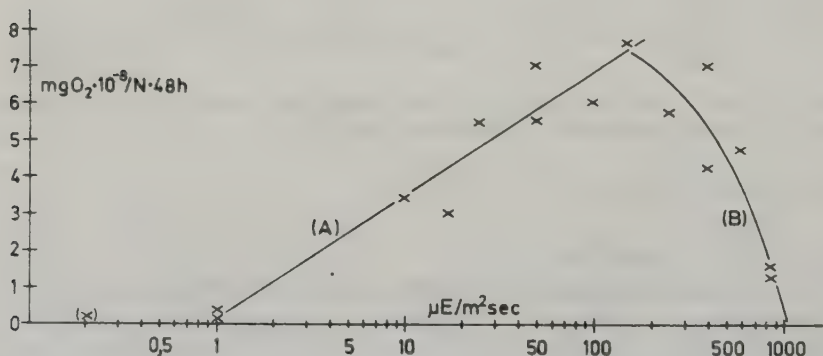


Abb. 81. O₂-Bruttoproduktion pro Zelle unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin in Abhängigkeit von der Lichtstärke (s. Text).

Bei $1 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ ist nur eine O₂-Produktion von max.

$0,4 \times 10^{-8} \text{ mg O}_2 / (\text{Zelle} \times 48 \text{ h})$ feststellbar (der Wert bei $0,2 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ wird deshalb nicht mehr zur Regressionsanalyse herangezogen). Sie steigt mit zunehmender Lichtstärke auf $7 - 8 \times 10^{-8} \text{ mg O}_2 / (\text{Zelle} \times 48 \text{ h})$ bei $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ an, um dann, dem Funktionsverlauf entsprechend, wieder auf fast Null bei $1000 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ abzufallen.

Die Auswirkungen von 0,05 ppm P C P kommen vor allem unter $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ zur Geltung:

Abb. 82:

(A) $0,88 - 10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = -1,253 + 1,515 x; R = 0,984; t_R = 11,14; N = 6$$

(B) $10 - 890 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 16,216 - 1,516 \ln x; R = -0,658; t_R = 2,47; N = 10$$

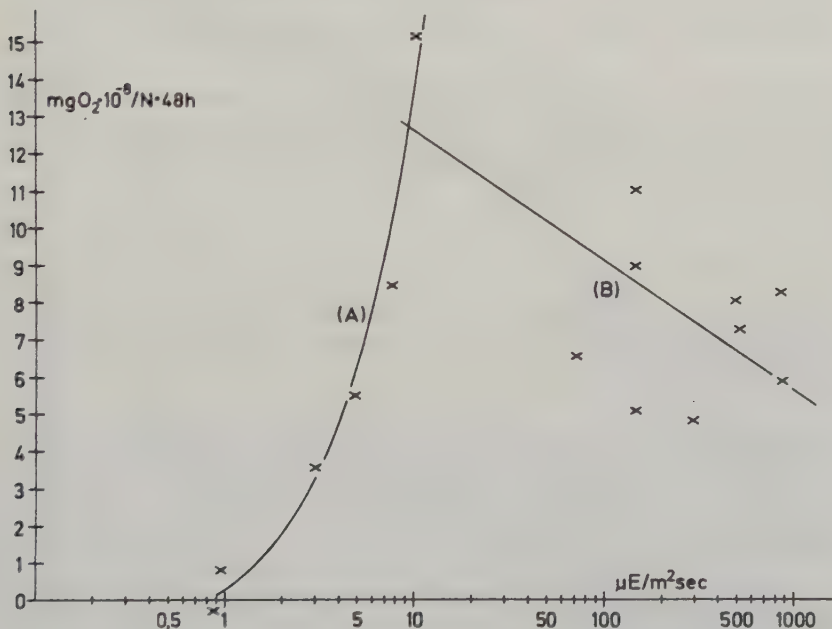


Abb. 82. O₂-Bruttoproduktion pro Zelle unter Einfluß von 0,05 ppm PCP in Abhängigkeit von der Lichtstärke (s. Text).

Wie bei Atrazin ist auch hier bei $1 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ praktisch keine O₂-Produktion mehr meßbar. Dann aber nimmt die Produktion sehr steil zu und beträgt bei $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ $13 - 14 \times 10^{-8} \text{ mg O}_2/(\text{Zelle} \times 48 \text{ h})$ (gemessen wurden sogar $15,2 \times 10^{-8} \text{ mg O}_2/(\text{Zelle} \times 48 \text{ h})$). Mit weiter ansteigender Lichtstärke nimmt die Produktion wieder langsam ab und liegt bei $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ zwischen 5 und $6 \times 10^{-8} \text{ mg O}_2/(\text{Zelle} \times 48 \text{ h})$.

Die Steigungen der eben beschriebenen Funktion (B) und der Funktion (C₂) Abb. 80 (ohne Chemikalienbelastung bei PCP-Versuchsreihe) unterscheiden sich nicht signifikant voneinander: $t_b = 1,21$ ($t_{0,05(27)} = 2,05$). Die Mittelwerte der Meßpunkte, die diese beiden Funktionen bilden, sind: Abb. 82 (B) = 8,13 und Abb. 80 (C₂) = 6,62. Die O₂-Bruttoproduktion pro Zelle ist also im Bereich von 10 - 890 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ unter PCP-Einfluß durchschnittlich 23 % höher als ohne Chemikalieneinfluß.

Die Steigungen der Funktionen im Bereich von 0,88 - 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, Abb. 82 (A) und Abb. 80 (C₁) (ohne Chemikalienbelastung bei PCP-Testreihe), sind signifikant voneinander verschieden: $t_b = 3,23$ ($t_{0,05(8)} = 2,31$).

b) Aktivität "A":

Bei Berechnung von absoluten Aktivitätswerten mit Hilfe der Regressionsfunktionen sind die Ergebnisse mit 10^{-10} zu multiplizieren.

Die Kontroll-Aktivitätswerte der Hell-Flaschen-Algen der Atrazin- und PCP-Versuchsreihe liegen dicht beisammen:

Abb. 83:

Atrazin-Versuchsreihe:

(B₁) 0,2 - 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = e(5,237 - 0,299 \ln x); R = -0,883; t_R = 2,66;$$

$$N = 4 \quad (t_{0,05(2)} = 4,30)$$

(B₂) 10 - 850 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = e(7,040 - 1,075 \ln x); R = -0,993; t_R = 28,73;$$

$$N = 13 \quad (t_{0,05(11)} = 2,20)$$

PCP-Versuchsreihe:

(C₁) 0,88 - 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = e(5,510 - 0,390 \ln x); R = -0,850; t_R = 3,23;$$

$$N = 6 \quad (t_{0,05(4)} = 2,78)$$

(C₂) 10 - 890 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = e(7,150 - 1,129 \ln x); R = -0,991; t_R = 21,48;$$

$$N = 10 (t_{0,05}(8) = 2,31)$$

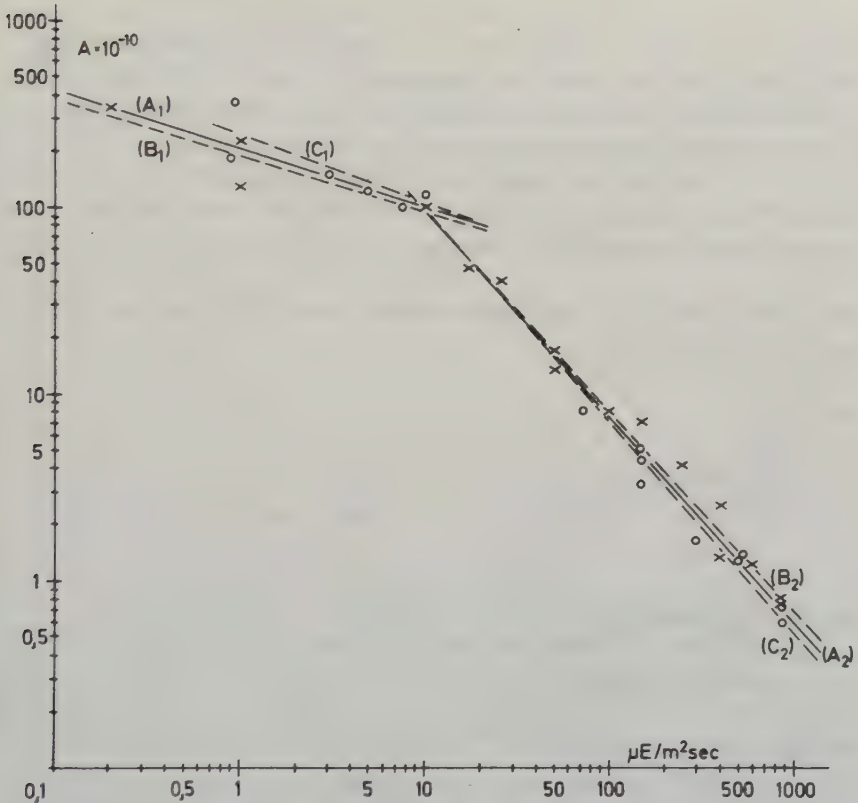


Abb. 83. Aktivität "A" ($(\text{mg O}_2 \times \text{m}^2 \times \text{sec}) / (N \times \mu\text{E} \times 48 \text{ h})$) der O₂-Bruttoproduktion ohne Xenobiotikainfluß in Abhängigkeit von der Lichtstärke. x: Atrazin-Versuchsreihe; o: PCP-Versuchsreihe (s. Text).

Die aus beiden Versuchsreihen resultierenden Gesamtfunktionen sind:

(A₁) 0,2 - 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = e(5,343 - 0,305 \ln x); R = -0,835; t_R = 4,29;$$

$$N = 10$$

(A₂) 10 - 890 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = e^{(7,115 - 1,105 \ln x)}; R = - 0,991; t_R = 34,45;$$

$$N = 23 \quad (t_{0,05}(21) = 2,08)$$

Der Gesamtfunktion folgend nimmt A ohne Chemikalieneinfluß von 340×10^{-10} bei $0,2 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ zunächst auf 100×10^{-10} bei $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ ab. Die weitere Steigerung der Lichtstärke führt zu einer gesteigerten Abnahme der Aktivität bis etwa $0,7 \times 10^{-10}$ bei ca. $900 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$. Die Steigerung der Lichtstärke von $0,2$ auf $900 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ (= 4500-fach) führt zu einer Aktivitätsabnahme auf ein Fünfhundertstel des Maximalwertes.

Unter dem Einfluß von $0,2$ ppm Atrazin ändert sich der Aktivitätsverlauf erheblich:

Abb. 84:

(A) 1 - 25 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = e^{(3,319 - 0,0114 x)}; R = - 0,340; t_R = 0,63; N = 5$$

$$(t_{0,05}(3) = 3,18)$$

(B) 25 - 600 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = e^{(6,600 - 1,046 \ln x)}; R = - 0,988; t_R = 17,22;$$

$$N = 9 \quad (t_{0,05}(7) = 2,36)$$

(C) 600 - 850 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 2,244 - 0,00244 x; R = - 0,9996; t_R = 35,22; N = 3$$

$$(t_{0,05}(1) = 12,7)$$

Die Maximalaktivität bei $1 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ erreicht nur 27×10^{-10} gegenüber 190×10^{-10} ohne Atrazineinfluß. Bei $850 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ beträgt die Aktivität nur noch $0,17 \times 10^{-10}$.

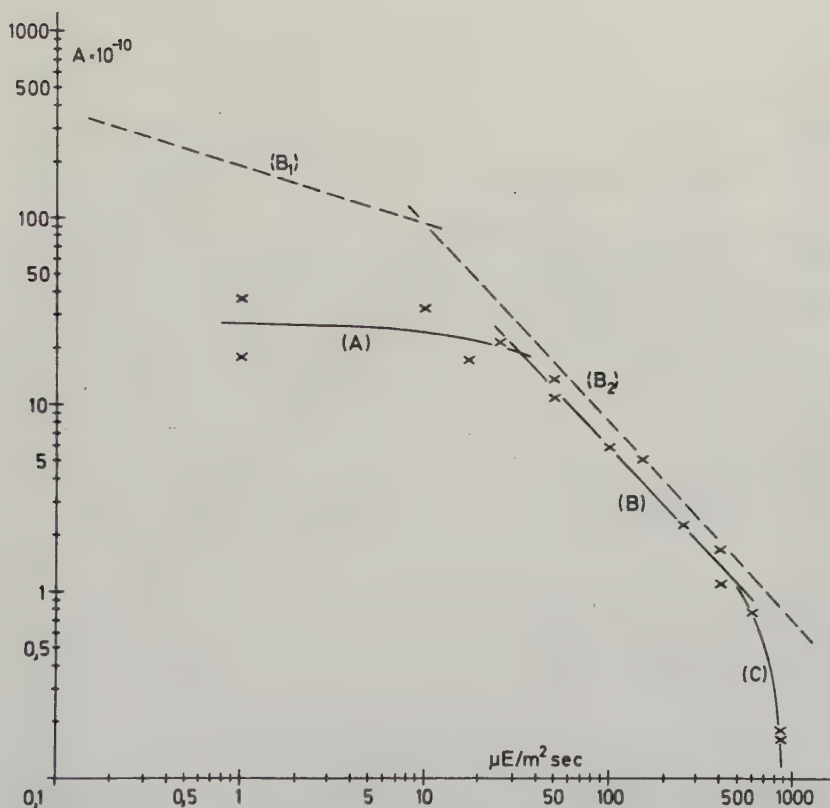


Abb. 84. Aktivität "A" ($(\text{mg O}_2 \times \text{m}^2 \times \text{sec}) / (\text{N} \times \mu\text{E} \times 48 \text{ h})$) der O_2 -Bruttoproduktion unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin in Abhängigkeit von der Lichtstärke: $\frac{x}{x}$. (----: A ohne Xenobiotikaeinfluß aus Atrazin-Versuchsreihe aus Abb. 98, B_1/B_2) (s. Text).

0,05 ppm PCP (Abb. 85) führen, von etwa 85×10^{-10} bei $1 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ ausgehend, zu einem leichten Anstieg auf $100 - 150 \times 10^{-10}$ bei $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

Abb. 85 :

(A) $0,94 - 10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = e(4,482 + 0,191 \ln x); R = 0,881; t_R = 3,22; N = 5$$

Dieser Anstieg wird durch einen signifikant von Null verschiedenen Korrelationskoeffizienten charakterisiert. Die Steigung

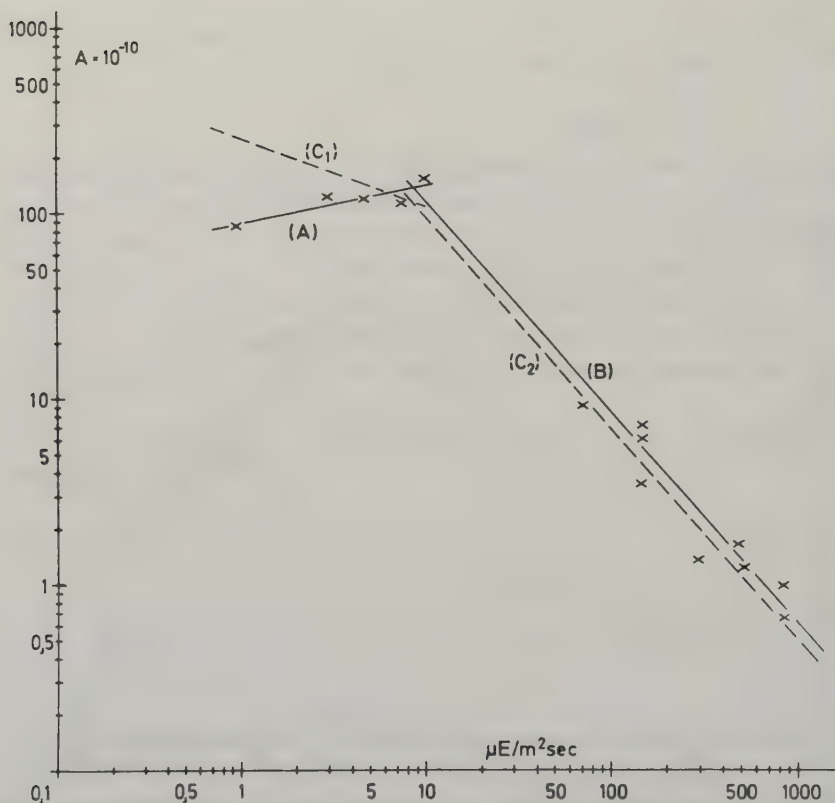


Abb.85. Aktivität "A" ($(mg O_2 \times m^2 \times sec)/(N \times \mu E \times 48 h)$) der O_2 -Bruttoproduktion unter Einfluß von 0,05 ppm PCP in Abhängigkeit von der Lichtstärke: $\frac{x}{x}$. (----: A ohne Xenobiotikaeinfluß aus PCP-Versuchsreihe aus Abb. 98, C_1/C_2) (s. Text).

unterscheidet sich signifikant von der Steigung der Funktion (C₁) Abb. 83 (chemikalienfreie PCP-Versuchsreihe) ($t_b = 3,77$ ($t_{0,05(7)} = 2,36$)) und der Steigung der Funktion (A₁) Abb. 83 (Gesamtfunktion ohne Chemikalienzusatz) ($t_b = 3,41$ ($t_{0,05(11)} = 2,20$)).

Von $10 \mu E/m^2 sec$ bis $890 \mu E/m^2 sec$ verläuft die "PCP-Funktion" (B) parallel zur Kontrollfunktion (Abb. 83 (A₂) und (C₂)):

Abb. 85 :

(B) $10 - 890 \mu E/m^2 sec$:

$$y = e(7,409 - 1,144 \ln x); R = - 0,983; t_R = 14,98; N = 10$$

Um einen besseren Eindruck über die Beeinflussung der Algen-Aktivität zu bekommen sind die **p r o z e n t u a l e n** **D i f f e r e n z e n** bezogen auf die Aktivität in den chemikalienfreien Hell-Flaschen der jeweiligen Testserie in Abb. 86 für 0,2 ppm Atrazin und Abb. 87 für 0,05 ppm P C P dargestellt.

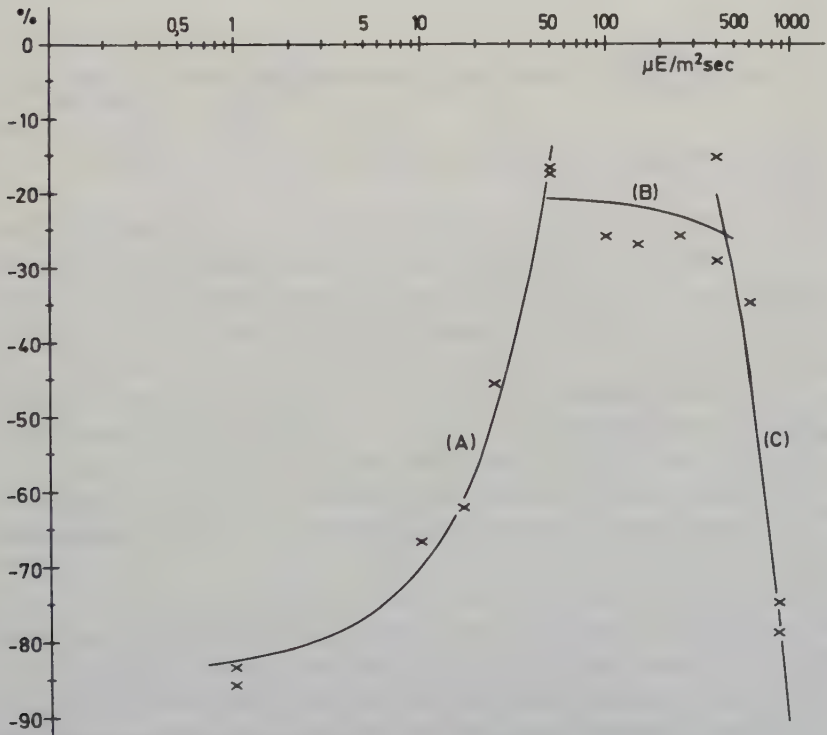


Abb.86. Prozentuale Differenz zwischen "A" aus den Hell-Flaschen mit 0,2 ppm Atrazin und den Kontrollen aus der Atrazin-Versuchsreihe.

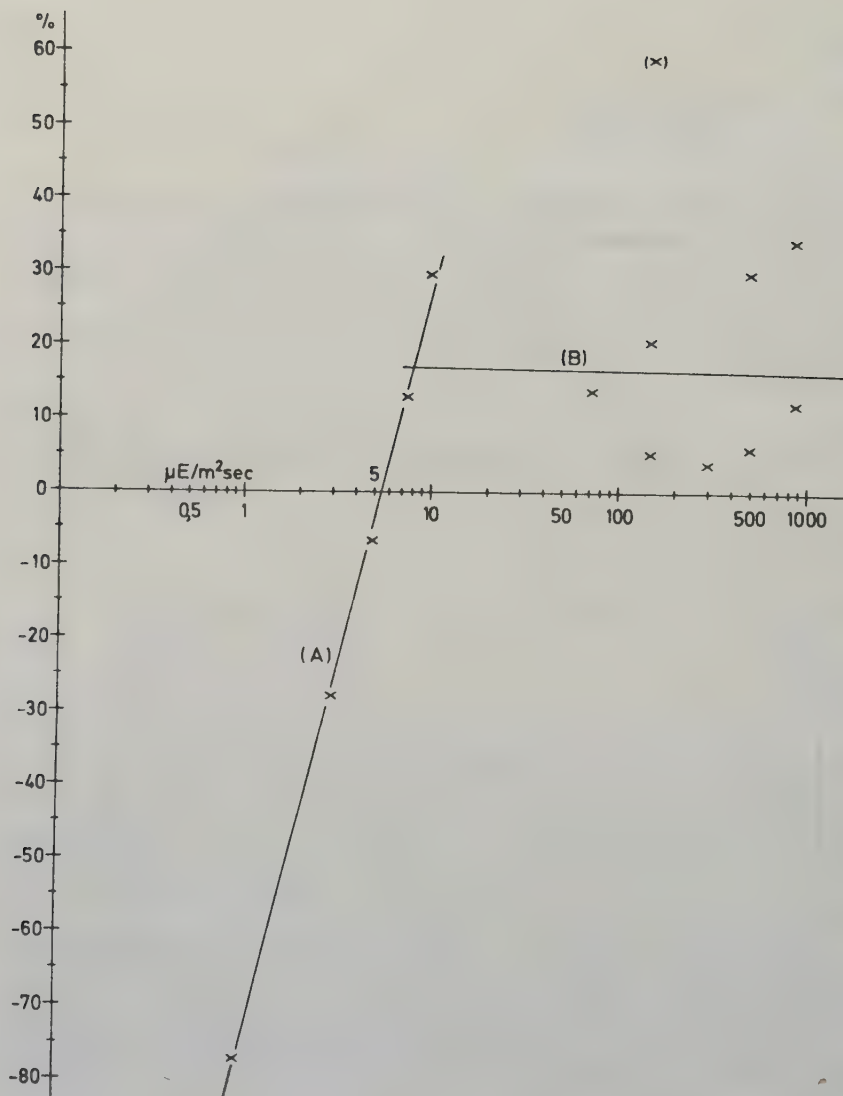


Abb.87. Prozentuale Differenz zwischen "A" aus den Hell-Flaschen mit 0,05 ppm PCP und den Kontrollen aus PCP-Versuchsreihe.

Abb. 86 :

(A) 1 - 50 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = - 84,169 + 1,365 x; R = 0,995; t_R = 23,19; N = 7$$

$$(t_{0,05}(5) = 2,57)$$

(B) 50 - 400 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = - 20,385 - 0,0125 x; R = - 0,303; t_R = 0,71; N = 7$$

(C) 400 - 850 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 28,287 - 0,122 x; R = - 0,960; t_R = 5,92; N = 5$$

Abb. 87 :

(A) 0,94 - 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = - 75,221 + 44,246 \ln x; R = 0,9995; t_R = 55,46; N = 5$$

(B) 7,5 - 890 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$:

$$y = 17,244 - 0,126 \ln x; R = - 0,020; t_R = 0,06; N = 10$$

Da im Bereich von 7,5 - 890 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ der Korrelationskoeffizient nicht signifikant von Null verschieden ist, kann der in Abb. 87 in Klammern gesetzte Wert nach t-Test ausgeschlossen werden: $t(x) = 3,88; N = 10$ ($t_{0,05}(9) = 2,26$).

Abb. 86 beschreibt die signifikante Abhängigkeit der Aktivitätshemmung durch 0,02 ppm **Atrazin** im Lichtstärkebereich von 1 - 50 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ und 400 - 850 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$. Im mittleren Lichtstärkebereich von 50 - 400 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ besteht keine signifikante Abhängigkeit; die durchschnittliche Hemmung beträgt dort 23 % ($s = 6$).

Die Beeinflussung der Aktivität durch 0,05 ppm **PCP** (Abb. 87) ist dagegen nur im Bereich von 1 - 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ signifikant von der Lichtstärke abhängig. Bei höheren Lichtstärken sind die Ergebnisse sehr gestreut, so daß sich lediglich eine Durchschnittsfunktion errechnen läßt, deren Korrelationskoeffizient

nicht signifikant von Null verschieden ist; die Aktivität ist im Durchschnitt um 17 % ($s = 11$) angehoben.

IV.1.2.2.5. Schlußfolgerungen

Die Ergebnisse über die lichtstärkebedingte unterschiedliche Beeinflussung des Zellchlorophyllgehaltes zeigen, daß bei dieser Thematik nur die Zelldichtebestimmung zur Ermittlung der Wachstumsraten geeignet ist. Was die Ergebnisse über die chemikalienbedingten Veränderungen des Zellchlorophyllgehaltes betrifft, so sollen besonders die deutliche Steigerung der Zunahme durch 0,2 ppm Atrazin im Bereich von 0,2 - 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ und die Hemmung der Zunahme durch 0,05 ppm PCP unter ca. 6 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ hervorgehoben werden, deren mögliche Ursachen in der Diskussion zu erörtern sind. Außerdem muß in der Diskussion auf die in ihrem Ausmaß unterschiedlichen Ergebnisse durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a einerseits und Chlorophyll-Fluoreszenzmessung andererseits eingegangen werden.

Aufgrund der Ergebnisse aus der Zelldichtebestimmung über die Wachstumsratenveränderungen ist festzustellen, daß der Verlauf der O_2 -Bruttoproduktionshemmung durch 0,2 ppm Atrazin abschnittsweise mit einer Hemmung der Wachstumsrate einhergeht, vor allem unter 25 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ und bei 850 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$. Die Veränderungen der O_2 -Bruttoproduktion werden nicht nachweisbar durch Veränderungen der Wachstumsrate begleitet.

Um bei der Betrachtung der Chemikalienwirkungen Beeinflussungen der O_2 -Bruttoproduktion durch Veränderungen der Wachstumsraten auszuschließen, wurden die O_2 -Bruttoproduktion pro Zelle und die Aktivität berechnet. Der zusammenfassende Vergleich aller berechneten Funktionen zur zellbezogenen O_2 -Bruttoproduktion (Abb. 88) läßt alle in den Funktionen der prozentualen O_2 -Bruttoproduktionsveränderungen (Abb. 60 und 61) ablesbaren Effekte wiederfinden: Die durch 0,2 ppm Atrazin auf fast Null reduzierte Produktion bei 1 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, die schwächer werdende Hemmung bis zu einem Bereich von 50 - 400 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$,

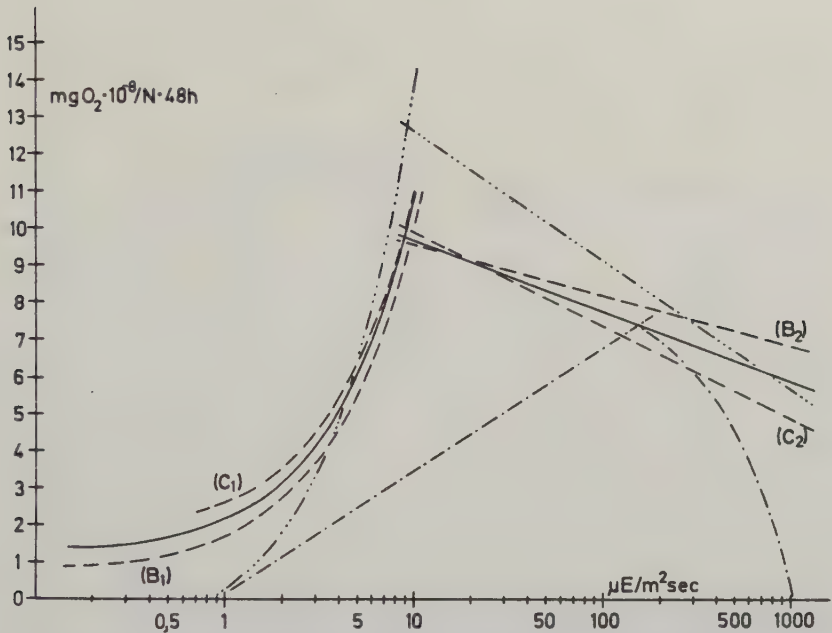


Abb. 88. O₂-Bruttoproduktion pro Zelle in Abhängigkeit von der Lichtstärke.: Atrazin 0,2 ppm; - - - - -: PCP 0,05 ppm. Kontrollen: — Durchschnitt; ---- C₁/C₂ = PCP-Versuchsreihe; ---- B₁/B₂ = Atrazin-Versuchsreihe.

innerhalb dessen diese immer unterhalb der Kontrollfunktion der Atrazin-Versuchsreihe bleibt, und die drastische Abnahme der Produktion bis 850 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$; die bei 0,9 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ durch 0,05 ppm PCP fast völlig unterbundene Produktion, die Produktionserhöhung ab ca. 5 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ und die im weiteren lichtstärkeunabhängige Produktionserhöhung (durchschnittlich 23 %).

Die Berechnung der Aktivität bestätigt alle bisher erwähnten Ergebnisse: In Abb. 89 sind die Funktionen der Aktivitätsveränderung (Abb. 86) und der O₂-Bruttoproduktionsveränderung (Abb. 60) durch 0,2 ppm Atrazin gegenüber gestellt. Der Verlauf der Aktivitäts-Funktion liegt bei ca. 200 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ über dem der O₂-Bruttoproduktions-Funktion, die Hemmung der Wachstumsrate unter 200 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ (Abb. 64) war für die O₂-Bruttoproduktionshemmung mitverantwortlich. Zwischen 50 und 400 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ werden die O₂-Bruttoproduktion und die Aktivität im Durchschnitt gleichermaßen gehemmt (um 25 bzw. 23 %).

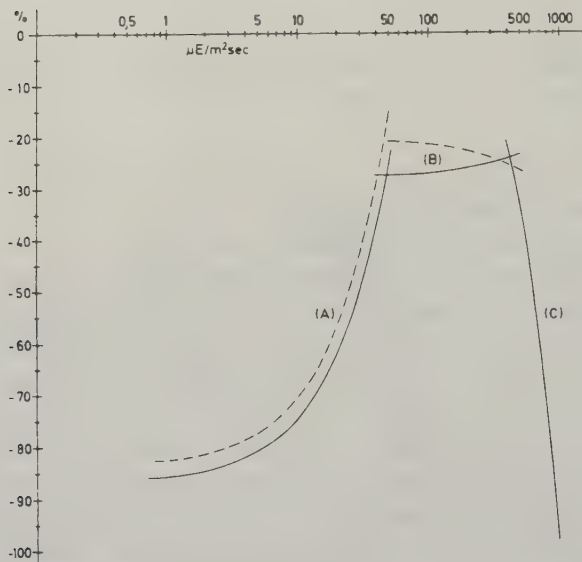


Abb. 89. Prozentuale Veränderung der O₂-Bruttoproduktion und prozentuale Veränderung der Aktivität "A" unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin in Abhängigkeit von der Lichtstärke.
—: O₂-Bruttoproduktion; ---: A.

Die Zusammenstellung der PCP-Einflüsse (Abb. 90) auf die O₂-Bruttoproduktion (Abb. 61) und Aktivität (Abb. 87) weist auf die angedeutete, aber nicht bewiesene, leichte Hemmung der Wachstumsraten (Abb. 66) hin. Die Aktivitätsberechnung spricht für eine etwas stärkere PCP-Wirkung auf die Photosyntheseprozesse ab ca. 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ (O₂-Bruttoproduktionserhöhung ca. 10 %, Aktivitätserhöhung durchschnittlich 17 %).

Die Berechnung der Aktivität beweist im Zusammenhang mit den anderen Ergebnissen, daß die Beeinflussung der lichtstärkeabhängigen zellbezogenen O₂-Bruttoproduktion (Photosyntheseleistung) durch 0,2 ppm Atrazin im Bereich von 1 - 50 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ und 400 - 850 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ und die Beeinflussung der Photosyntheseleistung durch 0,05 ppm PCP unter ca. 5 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ abhängig von der eingestrahltten Lichtstärke sind.

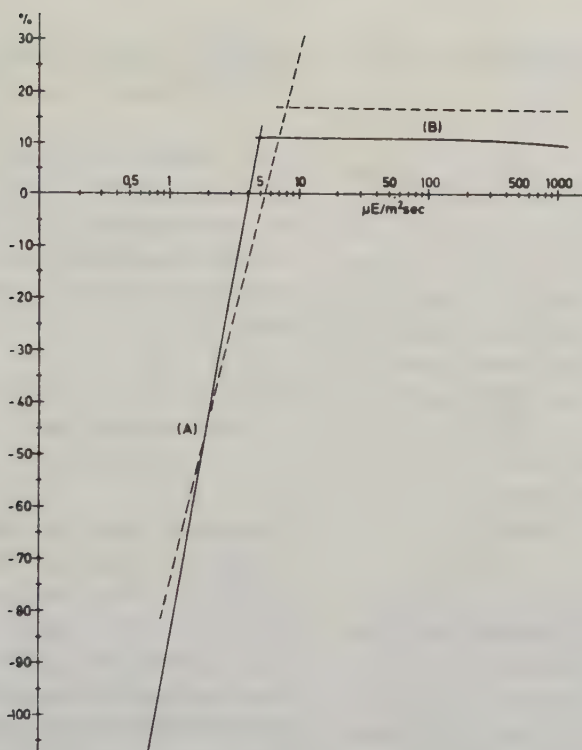


Abb.90. Prozentuale Veränderung der O_2 -Bruttoproduktion und prozentuale Veränderung der Aktivität "A" unter Einfluß von 0,05 ppm PCP in Abhängigkeit von der Lichtstärke.
—: O_2 -Bruttoproduktion; ----: A .

Dieses Resultat regte es an, eine kleine Versuchsreihe mit Atrazin bei niedriger Lichtstärke ($10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$) zu machen, um zu sehen, um wie viel geringer die Konzentrationen sind, die zur gleichen Hemmung der O_2 -Produktion führen wie bei $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$. Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse dargestellt.

IV.1.2.2.6. Beeinflussung der O_2 -Produktion durch Atrazin bei einer Lichtstärke von $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$

Ausgehend von einer ca. 70 %-igen Hemmung der berechneten O_2 -Bruttoproduktion durch 0,2 ppm Atrazin bei $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, wurde

die Atrazinkonzentration unter Beibehaltung dieser Lichtstärke verringert.

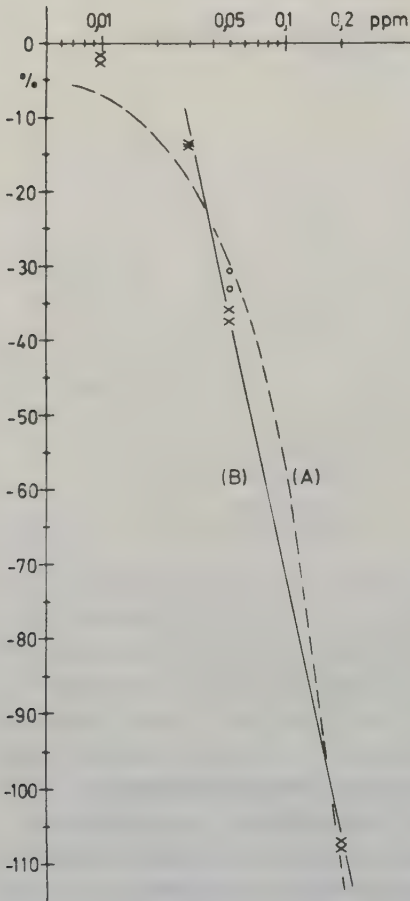


Abb. 91. Prozentuale Veränderung der O₂-Nettoproduktion unter Atrazineinfluß bei 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ (s. Text).

Das Ergebnis für die O₂-Nettoproduktion ist in Abb. 91 wiedergegeben. Die Meßwerte lassen sich durch eine gemeinsame Funktion verbinden:

$$\begin{aligned} \text{(A)} \quad y &= -1,683 - 539,695 x; \\ R &= -0,991; t_R = 12,97; \\ N &= 5 \quad (t_{0,05(3)} = 3,18) \end{aligned}$$

Trotz des hohen und signifikanten Korrelationskoeffizienten wird eine bessere Beschreibung der konzentrationsabhängigen Produktionshemmung durch die Funktion (B) gegeben, da der Wert bei 0,01 ppm Atrazin im Meßfehlerbereich liegt:

$$\begin{aligned} \text{(B)} \quad 0,03 \text{ ppm} - 0,20 \text{ ppm}: \\ y &= -188,069 - 50,640 \ln x; \\ R &= -0,997; t_R = 17,52; \\ N &= 4 \quad (t_{0,05(2)} = 4,30) \end{aligned}$$

Sie schneidet bei 0,024 ppm die x-Achse, was ungefähr der wirkungslosen Höchstkonzentration bei 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ entsprechen dürfte.

Zur Beschreibung der O₂-Bruttoproduktion (Abb. 92) gibt ein durchgehender Funktionsverlauf die Konzentrationsabhängigkeit in etwa wieder:

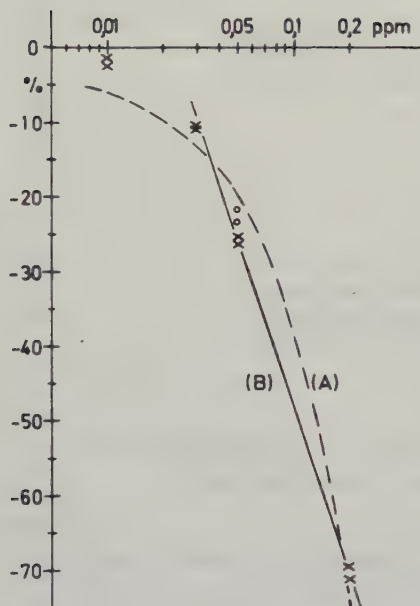


Abb. 92. Prozentuale Veränderung der berechneten O_2 -Bruttoproduktion unter Atrazineinfluß bei $10 \mu E/m^2 sec$.

$$(A) \quad y = -2,601 - 346,627 x;$$

$$R = -0,988; t_R = 11,09;$$

$$N = 5$$

Die Verteilung der Meßpunkte weist wiederum darauf hin, daß es sich bei 0,01 ppm nicht um die wirkungslose Höchstdosis handelt, weshalb die Berechnung der Funktion (B) angebracht ist:

$$(B) \quad 0,03 - 0,20 \text{ ppm:}$$

$$y = -121,652 - 32,192 \ln x;$$

$$R = -0,997; t_R = 19,09;$$

$$N = 4$$

Funktion (B) schneidet bei 0,023 ppm Atrazin die x-Achse, was sehr genau der O_2 -Nettoproduktionsfunktion entspricht.

Wie schon bei $150 \mu E/m^2 sec$ -Tests und den Tests bei variablen Lichtstärken herausgefunden, lieferte die O_2 -Zehrung keinen nachweisbaren Beitrag zur Hemmung der O_2 -Nettoproduktion.

Faßt man die in dieser Versuchsreihe gewonnenen Werte mit den Werten der Abb. 16 (Einfluß von 0,05 - 1,0 ppm Atrazin auf die O_2 -Zehrung) zusammen (Abb. 93), so erhält man Informationen über den großen Konzentrationsbereich von 0,01 - 1,0 ppm Atrazin, welche die bisher gemachten Aussagen über die Unwirksamkeit von Atrazin auf die O_2 -Zehrung bestätigen:

$$y = -1,917 - 2,077 x; R = -0,16; t_R = 0,84; N = 29$$

$$(t_{0,05(27)} = 2,05)$$

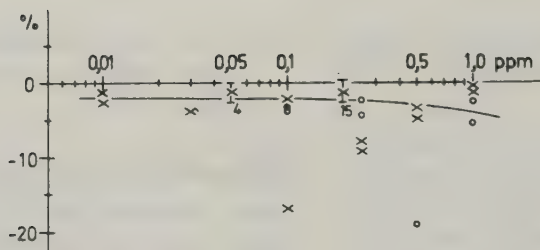


Abb.93. Prozentuale Veränderung der O_2 -Zehrung unter Atrazineinfluß in Dunkel-Flaschen (bei 0,05 ppm und 0,2 ppm Mittelwert mit Standardabweichung aus 4 bzw. 15 Werten; bei 0,03 ppm zwei graphisch nicht trennbare Werte).

Die wichtigsten Ergebnisse aus dieser Versuchsreihe lassen sich am besten im Vergleich zu den Ergebnissen bei $150 \mu E/m^2 sec$ erarbeiten:

Zum besseren Verständnis sind die Ergebnisfunktionen (Abb. 91 und 92) noch einmal zusammen mit den Ergebnisfunktionen der $150 \mu E/m^2 sec$ -Tests (Abb. 15 und 17) in Abb. 94 (O_2 -Nettoproduktion) und Abb. 95 (berechnete O_2 -Bruttoproduktion) aufgetragen. Wie erwartet sind niedrigere Atrazinkonzentrationen notwendig, um gleiche Wirkung zu erreichen. Die Funktionen bei $10 \mu E/m^2 sec$ verlaufen zwischen 0,03 ppm und 1,0 ppm flacher, als die Funktionen bei $150 \mu E/m^2 sec$ zwischen 0,1 und 1,0 ppm. Ihre Steigungen unterscheiden sich signifikant voneinander: $t_b(\text{Nettoprod.}) = 2,88$; $t_b(\text{Bruttoprod.}) = 2,55$; $N_{\text{jeweils}} = 12$ ($t_{0,05(8)} = 2,31$). Anders ausgedrückt heißt dies: Um zunehmende Schädigung zu erreichen, verringern sich die Konzentrationsunterschiede. Verlängert man die genannten Funktionen bis zur x-Achse, erhält man die theoretische wirkungslose Höchstkonzentration. Sie ist bei $10 \mu E/m^2 sec$ ca. 4 mal niedriger (ca. 0,024 ppm) als bei $150 \mu E/m^2 sec$ (ca. 0,09 ppm). Die Konzentration, die zu 50 %iger Hemmung führt, ist bei $10 \mu E/m^2 sec$ ca. 3 mal niedriger als bei $150 \mu E/m^2 sec$. Für eine 100 %-ige Hemmung der O_2 -Nettoproduktion und O_2 -Bruttoproduktion benötigt man bei $10 \mu E/m^2 sec$ eine 2,6 mal niedrigere Konzentration als bei $150 \mu E/m^2 sec$.

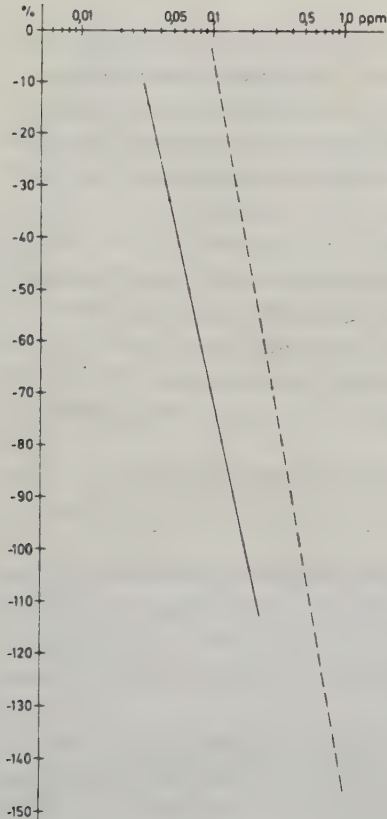


Abb. 94. Prozentuale Veränderung der O₂-Nettoproduktion durch Atrazin bei 10 µE/m²sec und 150 µE/m²sec.
—: 10 µE/m²sec; ----: 150 µE/m²sec.

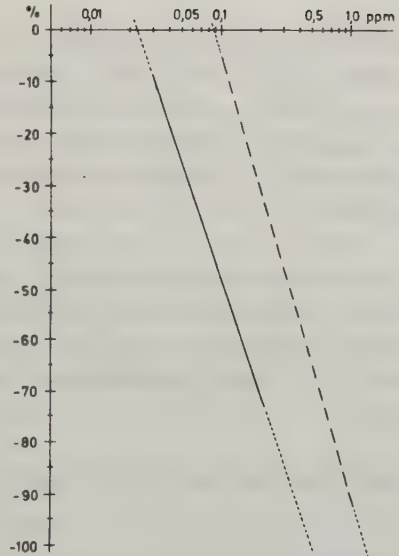


Abb. 95. Prozentuale Veränderung der berechneten O₂-Bruttoproduktion durch Atrazin bei 10 µE/m²sec und 150 µE/m²sec.
—: 10 µE/m²sec; ----: 150 µE/m²sec.

IV.2. Freilandexperimente

IV.2.1. Analyse der Testparamter im Kontrollversuch

IV.2.1.1. O₂-Produktion und O₂-Zehrung

Auf die Untersuchung des zeitlichen Verlaufs innerhalb der Versuchszeit von 8 h wurde verzichtet. Ergebnisse aus kurzzeitlichen Meßabständen im Freilandversuch lassen sich wegen

der niedrigen O₂-Produktions- und O₂-Zehrungsmengen und daraus resultierenden zu hohen relativen Meßfehlern nicht absichern. Außerdem führen ein oder zwei derartige Untersuchungen wegen der wechselnden Lichtverhältnisse im Untersuchungszeitraum und während der Versuchsdauer von 8 h zu keinen repräsentativen Aussagen.

O₂-Produktion und O₂-Zehrung unterlagen wegen der unterschiedlichen Lichtverhältnisse (durchschnittlich 289 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$; $s = 61 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$; $N = 36$) und der sich verändernden Phytoplanktondichten und -zusammensetzung starken Schwankungen; die durchschnittlichen Werte aus den Kontrollversuchen waren:

O₂-Nettoproduktion: 0,970 mg O₂/l; $s = 0,325$ (= 33 %)

O₂-Bruttoproduktion: 1,250 mg O₂/l; $s = 0,412$ (= 33 %)

O₂-Zehrung: 0,280 mg O₂/l; $s = 0,081$ (= 29 %)

Njeweils = 36

Die Verhältnisse zueinander sind:

O₂-Nettoproduktion zu O₂-Zehrung = 3,5

O₂-Bruttoproduktion zu O₂-Zehrung = 4,5

O₂-Bruttoproduktion zu O₂-Nettoproduktion = 1,3

IV.2.1.2. Zelldichte, Artenzusammensetzung und Chlorophyllkonzentration

Wie in Kap. II.3.4.1. bereits beschrieben, ist es bei einer Testdauer von 8 h sehr unwahrscheinlich, Xenobiotikaeinflüsse auf Zellvermehrung und Artenzusammensetzung feststellen zu können. Da die Artenbestimmung und Auszählung sehr arbeits- und zeitaufwendig ist, wurde die Auswertung auf die Bestimmung von Algen aus den Hell-Flaschen und Tests mit hohen Chemikalienkonzentrationen beschränkt. Nur wenn bei diesen ausgewählten Konzentrationen eindeutigen Wirkungen auf einen der beiden oder beide Parameter festgestellt wurden, wurden auch Tests mit niedrigeren Xenobiotikakonzentrationen ausgewertet.

Insgesamt wurden die Befunde von 13 Versuchstagen ausgewertet, d.h. 39 Proben ausgezählt. Die Auszählergebnisse sind in den Tabellen 7 - 19 aufgelistet (s. Tabellenanhang). Es wurden max. 27 Algengattungen bzw.- arten (Taxa) unterschieden. Den Taxa sind in Tabelle 6 Nummern zugeordnet, die in den Tabellen 7 - 19 eingetragen sind. Die Gesamtzelldichte bei Testende in den Hell-Flaschen ohne Chemikalien (Kontrollwerte) blieb gegenüber der Anfangszelldichte praktisch unverändert. Das durchschnittliche Verhältniss der Zelldichte in den Kontrollen, Testende zu Testbeginn, war 1,004 ($s = 0,111$) ermittelt aus 11 Werten; 2 Werte wurden nach t-Test als "Ausreißer" ausgesondert.

Aufgrund dieses Ergebnisses wurde darauf verzichtet Wachstumsraten zu berechnen.

Die Zelldichte in den Kontrollen der diesbezüglich ausgewerteten 13 Versuche (Tab. 7 - 19) betrug durchschnittlich 16691 Zellen/ml ($s = 8410$). Sie unterlag insbesondere in der Frühlingsperiode starken Schwankungen.

Der Chlorophyllgehalt wurde auch im Freiland mit den beiden genannten Methoden ermittelt: Der Bestimmung des aktiven Chlorophylls a und der Messung der Chlorophyll-Fluoreszenz. Es wurden ebenfalls nur die Hell-Flaschen berücksichtigt.

Ebenso wie die Zellzahl bleibt der Chlorophyllgehalt der Kontrollen während der 8 h Testdauer praktisch konstant. Die Kontrollwerte aus den einzelnen Versuchsserien zu den jeweiligen Testchemikalien sind in den entsprechenden Kapiteln graphisch dargestellt.

Da weder die Zelldichte noch der Chlorophyllgehalt innerhalb der Versuchsdauer von 8 h ein Wachstum zeigen, kann Chlorophyll nicht als Wachstumsparameter - unter Berechnung mit Hilfe der logarithmischen Wachstumsformel - Verwendung finden.

Es ist unter den genannten Bedingungen davon auszugehen, daß es sich bei Veränderungen im Chlorophyllgehalt durch Chemikalieneinfluß um Veränderungen des zellspezifischen Chlorophyllgehaltes handelt, weshalb die Angabe in Form von prozentualen Veränderungen (vgl. Kap. II.1.2.) angebracht ist.

Die durchschnittlichen Chlorophyll-Kontrollwerte waren:

Aktives Chlorophyll a:

Verhältnis Endkonzentration zu Ausgangskonzentration = 0,92
(s = 0,11; N = 36).

Ausgangskonzentration: 12,91 µg/l; s = 5,91 µg/l; N = 36

Endkonzentration: 11,74 µg/l; s = 5,16 µg/l; N = 36

Chlorophyll-Fluoreszenzeinheiten:

Verhältnis Endwert zu Ausgangswert = 1,02 (s = 0,18; N = 32).

Ausgangswert: 44,00; s = 18,33; N = 32

Endwert: 43,80; s = 17,79; N = 32.

IV.2.2. Analyse der Testsubstanzen im ökotoxikologischen Versuch

IV.2.2.1. Atrazin (0,01 - 10 ppm)

IV.2.2.1.A. O₂-Produktion und O₂-Zehrung

Die O₂-Nettoproduktion der Phytoplanktonpopulation des Fasaneerie Sees wird unter Einfluß von Atrazin (Abb. 96) sehr stark gehemmt:

0,01 - 0,1 ppm: $y = -152,917 - 32,330 \ln x$; R = - 0,996;
 $t_R = 21,29$; N = 6 ($t_{0,05(4)} = 2,78$)

0,1 - 1,0 ppm: $y = -129,409 - 22,388 \ln x$; R = - 0,992;
 $t_R = 13,70$; N = 5 ($t_{0,05(3)} = 3,18$)

1,0 - 10 ppm: $y = -127,994 + 0,0794 x$; R = 0,951;
 $t_R = 3,09$; N = 3 ($t_{0,05(1)} = 12,7$)

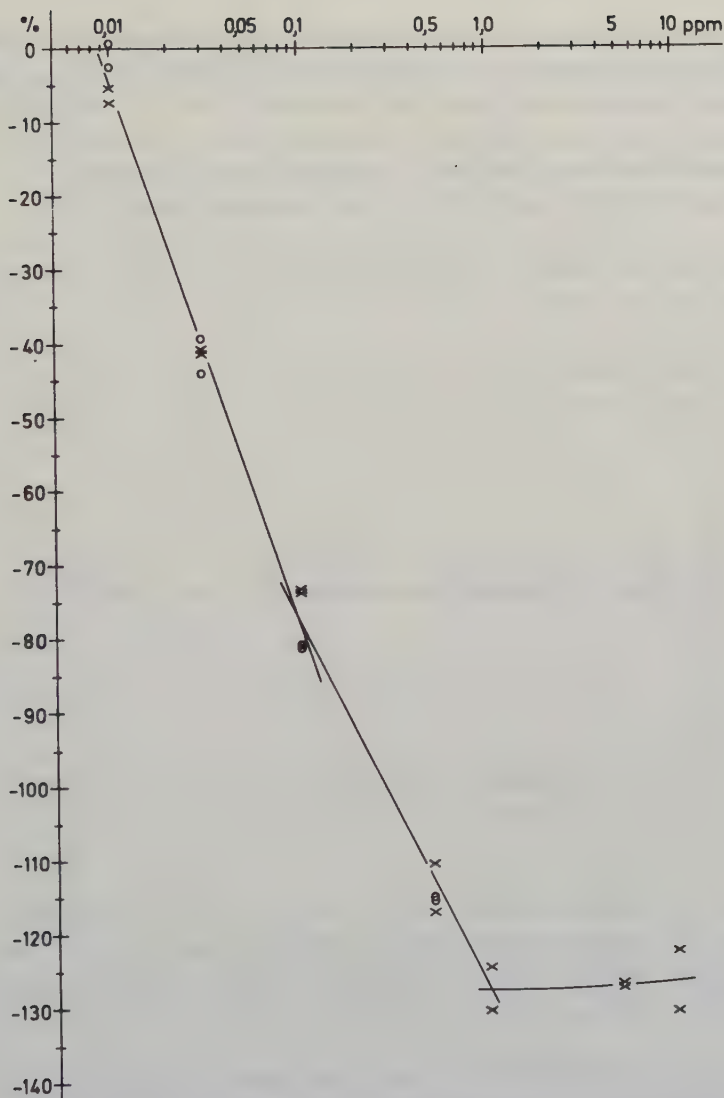


Abb. 96. Prozentuale Veränderung der O₂-Nettoproduktion im Freiland unter Atrazineinfluß.

Der Funktionsverlauf erreicht bei 0,1 ppm einen Hemmwert von knapp 80 % und geht dort in eine etwas flachere Funktion über.

Die Steigungen dieser beiden Funktionen sind signifikant voneinander verschieden: $t_b = 4,41$ ($t_{0,05(7)} = 2,36$). Bei 1,0 ppm wird eine Hemmung von 125 - 130 % erreicht. Der O_2 -Verbrauch ist höher als die O_2 -Bildung. Dieser Hemmwert wird bis 10 ppm nicht mehr überschritten; die Funktion in diesem Bereich ist nicht mehr von der Konzentration des Atrazins abhängig.

Der Verlauf der prozentualen Veränderung der O_2 -Zehrung ist in Abb. 97 dargestellt:

$$y = -0,484 - 1,194 x; R = -0,763; t_R = 3,54; N = 11$$
$$(t_{0,05(9)} = 2,26)$$

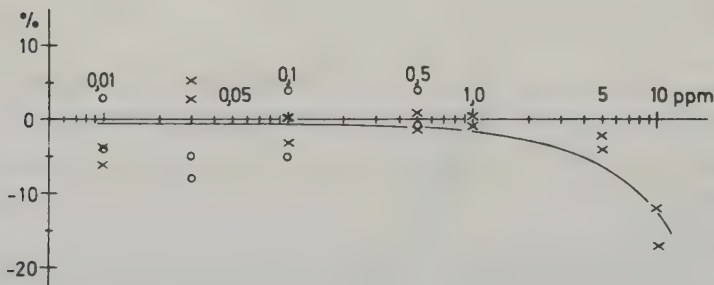


Abb. 97. Prozentuale Veränderung der O_2 -Zehrung in Dunkel-Flaschen im Freiland unter Atrazineinfluß.

Der Korrelationskoeffizient dieser Funktion ist signifikant, was auf die Zehrungshemmung bei 10 ppm zurückzuführen ist. Der Wert bei 10 ppm unterscheidet sich signifikant von allen anderen Werten: $t_{10 \text{ ppm}} = 4,30$ ($t_{0,05(9)} = 2,26$).

Die Werte im Bereich 0,01 - 5 ppm sind nicht signifikant von Null verschieden: $t_0 = 0,38$.

Erst bei 10 ppm Atrazin kommt es also zu einer leichten O_2 -Zehrungshemmung von ca. 15 %, die jedoch, nachdem es sich um ein einzelnes Testergebnis handelt, nicht überbewertet werden darf.

Der Funktionsverlauf der berechneten O_2 -Bruttoproduktionshemmung (Abb. 98) ist ebenfalls bei 0,1 ppm abgeknickt:

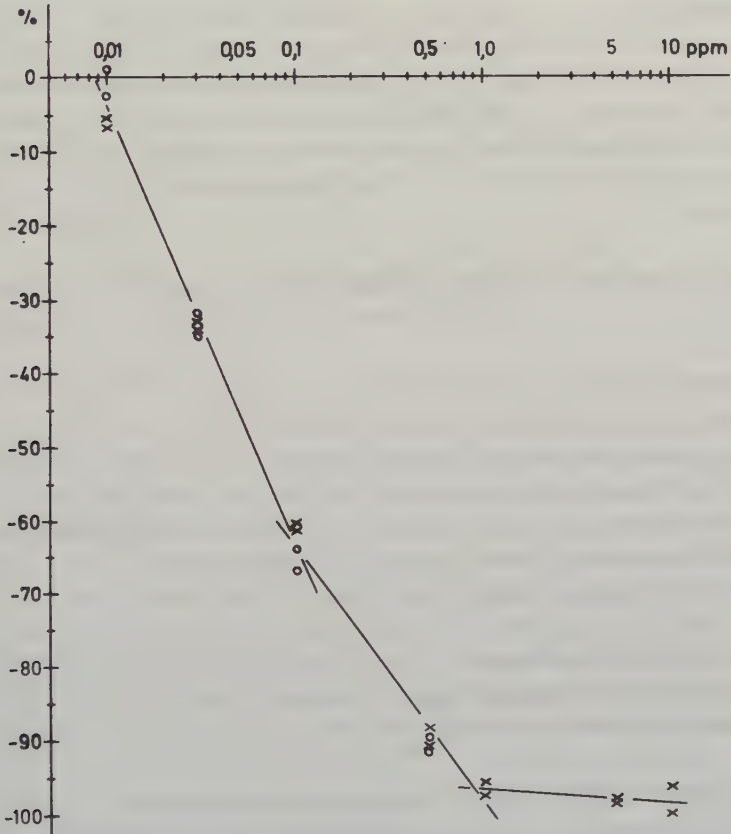


Abb.98. Prozentuale Veränderung der berechneten O_2 -Bruttoproduktion im Freiland unter Atrazineinfluss.

$$0,01 - 0,1 \text{ ppm: } y = -123,473 - 25,945 \ln x; R = -0,996; \\ t_R = 22,57; N = 6$$

$$0,1 - 1,0 \text{ ppm: } y = -99,312 - 15,429 \ln x; R = -0,993; \\ t_R = 11,23; N = 5$$

Die Steigungen dieser beiden Funktionen sind signifikant voneinander verschieden: $t_b = 5,93$ ($t_{0,05(7)} = 2,36$). Bei 1,0 ppm wird annähernd eine völlige Hemmung der O_2 -Bruttoproduktion erreicht.

Die Funktion zwischen 1,0 und 10 ppm nähert sich noch weiter der 100 %-Grenze, ihr Korrelationskoeffizient ist aber nicht mehr signifikant von Null verschieden:

Abb. 98:

$$1,0 - 10 \text{ ppm: } y = -96,996 - 0,828 \ln x; R = -0,934; \\ t_R = 2,61; N = 3$$

Zusammenfassend ist festzustellen:

Atrazin hemmt über 0,01 ppm die O_2 -Nettoproduktion und O_2 -Bruttoproduktion in signifikanter Weise. Ab 0,1 ppm wird die konzentrationsabhängige Zunahme der Hemmung etwas geringer, bei 1,0 ppm erreicht die Hemmung ihren Maximalwert (O_2 -Nettoproduktion: 125 - 130 %; O_2 -Bruttoproduktion: 95 - 100 %). Die O_2 -Zehrung im Dunkeln wird nicht signifikant beeinflusst.

Inwieweit die starke Hemmung der O_2 -Produktion in Zusammenhang mit Wirkungen auf das Wachstum der Algen steht, sollen die Ergebnisse der nächsten Kapitel zeigen.

IV.2.2.1.B. Zelldichte und Artenzusammensetzung

Um eine evtl. Wirkung von Atrazin auf die Zelldichte bzw. Artenzusammensetzung festzustellen, wurden die Proben aus den Versuchen mit 1,0 ppm und zweimal je 0,5 ppm ausgezählt (Tab. 7 - 10). Die Zelldichten bei Versuchsende sind in den Hell-Flaschen mit und ohne Atrazin nicht signifikant unterschiedlich.

Rhodomonas minuta (Nr. 11, Tab. 6) ist jedoch in den Hell-Flaschen mit Atrazin bei Testende in durchschnittlich 50 %

geringerer Anzahl vertreten als in den Kontrollen. Aber auch in den Kontrollen nimmt diese Spezies um etwa 60 % von der Ausgangsdichte ab. *Tetraedron minimum* (Nr. 17) liegt am Testende unter Atrazineinfluß ebenfalls um etwa 50 % weniger vor als ohne Atrazineinfluß. Das gleiche gilt bei einer Verringerung von 30 - 60 % für *Kirchneriella* sp. (Nr. 21).

Aufgrund dieser Ergebnisse besteht kein Anlaß die gefundene Hemmung der O_2 -Produktion auf Beeinflussung des Algenwachstums zurückzuführen.

Ob Atrazin den Chlorophyllgehalt der Algen beeinflusst, ist im folgenden Abschnitt zu klären.

IV.2.2.1.C. Chlorophyll

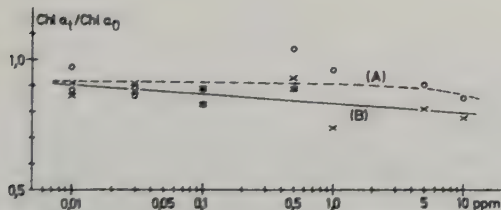


Abb. 99. Verhältnis der Konzentration an aktivem Chlorophyll a bei Testende zur Konzentration bei Testbeginn ($Chl a_t / Chl a_0$) in den Hell-Flaschen der Atrazin-Versuchsreihe. $\circ$ - γ : Kontrollen; $\times$ - $\times$: mit Atrazin.

Das Verhältnis der Konzentration an aktivem Chlorophyll a bei Testende zu Testbeginn, gemessen während der Atrazin-Versuchsreihe mit und ohne (Kontrolle) Atrazineinfluß, ist in Abb. 99 dargestellt. Während die Kontroll-

funktion (A) parallel zur x-Achse verläuft ist die Funktion (B) in Abhängigkeit von der steigenden Atrazinkonzentration leicht abfallend:

$$(A): y = 0,913 - 0,0048 x; R = - 0,248; t_R = 0,77; N = 11; \\ (t_{0,05(9)} = 2,26)$$

$$(B): y = 0,832 - 0,0153 \ln x; R = - 0,604; t_R = 2,27; N = 11$$

Die mit zunehmender Atrazinkonzentration zunehmende Abnahme an aktivem Chlorophyll a während der Versuchsdauer ist durch

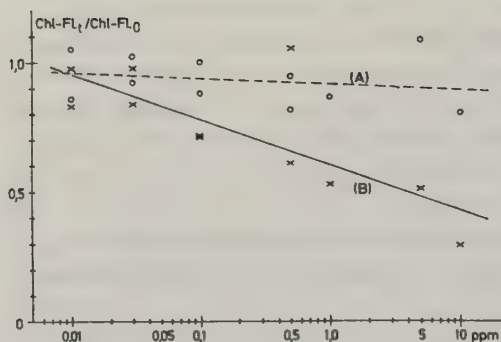


Abb. 100. Verhältnis der Chlorophyll-Fluoreszenz von Testende zu Testbeginn ($\text{Chl-Fl}_t / \text{Chl-Fl}_0$) in den Hell-Flaschen der Atrazin-Versuchsreihe.
 $\circ$: Kontrollen; $\times$: mit Atrazin.

einen signifikant von Null verschiedenen Korrelationskoeffizienten gekennzeichnet.

Der mit Hilfe der Chlorophyll-Fluoreszenzmessung festgestellte Chlorophyllgehalt (Abb. 100) zeigt eine noch deutlichere Beeinflussung durch Atrazin:

Kontrolle (A):
 $y = 0,913 - 0,0099 \ln x$;
 $R = -0,242$; $t_R = 0,75$;
 $N = 11$

mit Atrazineinfluß (B):
 $y = 0,604 - 0,076 \ln x$;
 $R = -0,772$; $t_R = 3,64$;
 $N = 11$

Unter dem Einfluß von 10 ppm Atrazin enthalten die Algen bei Testende nur noch 40 % des Ausgangschlorophyllgehaltes.

Um die Wirkung des Atrazins auf die Veränderung des Chlorophyllgehaltes während der Versuchsdauer bes-

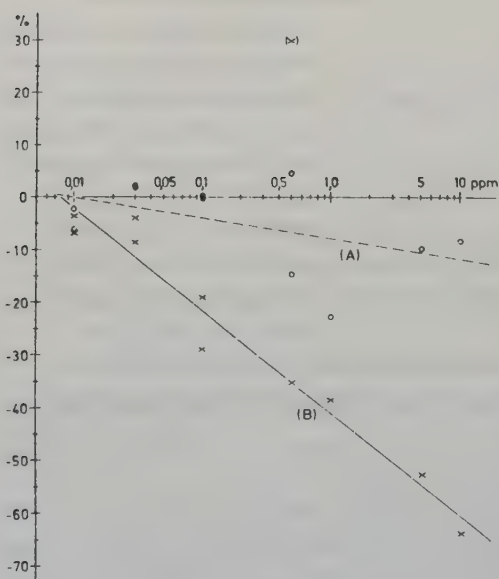


Abb. 101. Prozentuale Differenz des Chlorophyllverhältnisses - Testende zu Testbeginn - zwischen den Hell-Flaschen mit und ohne Atrazin. $\circ$: aktives Chlorophyll a; $\times$: Chlorophyll-Fluoreszenz.

ser hervorzuheben, sind in Abb. 101 die prozentualen Differenzen zwischen den Einzelwerten aus den Funktionen (A) und (B) in Abb. 99 und 100 aufgetragen:

(A) aktives Chlorophyll a (aus Abb. 99):

$$y = - 7,860 - 1,719 \ln x; R = - 0,487; t_R = 1,67; N = 11$$

(B) Chlorophyll aus Chlorophyll-Fluoreszenzmessung (aus Abb. 100):

$$y = - 41,020 - 8,461 \ln x; R = - 0,979; t_R = 13,69;$$

$$N = 10 (t_{0,05(8)} = 2,31)$$

Die Funktion (A) verläuft sehr flach und ihr Korrelationskoeffizient ist nicht signifikant von Null verschieden. Funktion (B) beweist dagegen eindeutig den chlorophyllabbauenden Einfluß von Atrazin.

IV.2.2.1.D. Schlußfolgerungen

Die Ergebnisse aus der Zelldichte- und Taxabestimmung reichen nicht aus, um als Erklärung für die starke Hemmung der O₂-Produktion zu dienen. Der durch Chlorophyll-Fluoreszenzmessung bewiesene zunehmende Abbau des Chlorophyllgehaltes der Algen durch ansteigende Atrazinkonzentrationen unterstützt das Ergebnis der O₂-Produktionshemmung, beides als Folgen einer Beeinflussung des Photosyntheseablaufes. Daß das Ergebnis aus der Bestimmung des aktiven Chlorophylls a meist weniger deutlich ausfällt, ist in Zusammenhang mit bereits beschriebenen, ähnlichen Ergebnisdifferenzen in der Diskussion zu erörtern.

Die Berechnung der O₂-Bruttoproduktion muß auch hier wieder zur Voraussetzung haben, daß die O₂-Zehrung auch unter Lichteinwirkung (bei Lichtausschluß bis 5 ppm bewiesen) unbeeinflusst bleibt. Eine einfache Rechnung unterstützt diese Annahme: Das durchschnittliche Verhältnis von Nettoproduktion zu Zehrung im Freiland war 3,5:1 (vgl. Kap. IV.2.1.1.), d.h. bei völliger Unterbindung der O₂-Bruttoproduktion und ungestört verlaufender O₂-Zehrung ist eine max. Reduktion der O₂-Nettoproduktion um ca. 129 % möglich. Die Regressionsfunktion zeigt

bei 1,0 ppm eine Hemmung der O₂-Nettoproduktion um 128 %, eine signifikante Veränderung dieses Wertes ist selbst bei 10 ppm nicht nachweisbar. Die O₂-Zehrung bei Lichtausschluß nimmt erst durch 10 ppm um ca. 12 % ab. Findet diese Abnahme der O₂-Zehrung auch unter Lichteinwirkung statt, so ließe sich daraus der leichte aber nicht signifikante Anstieg der Regressionsfunktion der O₂-Nettoproduktion von 1,0 - 10 ppm Atrazin erklären.

Das Resultat aus diesen Einzelergebnissen lautet: Atrazin hemmt über 0,01 ppm die O₂-Produktion bis zur völligen Unterbindung durch 1,0 ppm. Da neben dieser Hemmung kein maßgeblich verringertes Wachstum beobachtet wurde, ist sie auf die direkte Beeinflussung der Photosynthese zurückzuführen.

IV.2.2.2. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (1,0 - 50 ppm)

IV.2.2.2.A. O₂-Produktion und O₂-Zehrung

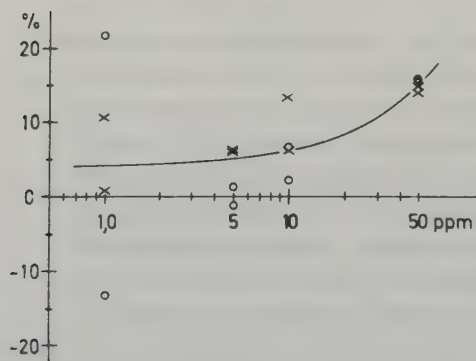


Abb. 102. Prozentuale Veränderung der O₂-Nettoproduktion im Freiland unter 2,4-D-Einfluss.

2,4-D führt zu einer leichten Steigerung der O₂-Nettoproduktion. Die Funktion (Abb. 102) verläuft zwar sehr flach, besitzt aber einen signifikant von Null verschiedenen Korrelationskoeffizienten:

$$y = 3,942 + 0,223 x;$$

$$R = 0,877; t_R = 4,46;$$

$$N = 8 \quad (t_{0,05(6)} = 2,45)$$

Unter Berücksichtigung der Fehlergrenzen kann von einer eindeutigen Steigerung erst ab 50 ppm 2,4-D gesprochen werden.

O₂-Zehrung, Abb. 103:

$$y = 4,586 - 4,010 \ln x; R = -0,831; t_R = 3,66;$$

$$N = 8$$

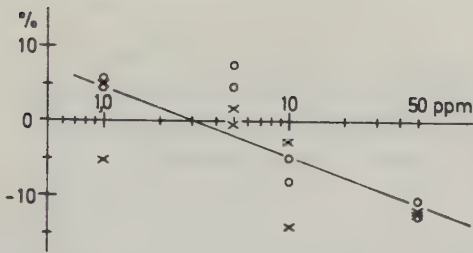


Abb. 103. Prozentuale Veränderung der O_2 -Zehrung in Dunkel-Flaschen im Freiland unter 2,4-D-Einfluß.

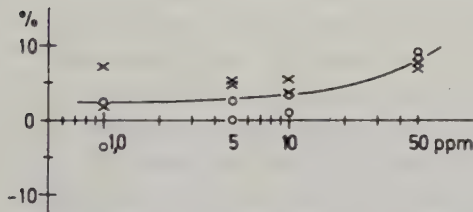


Abb. 104. Prozentuale Veränderung der berechneten O_2 -Bruttoproduktion im Freiland unter 2,4-D-Einfluß.

O_2 -Bruttoproduktion,
Abb. 104:

$$y = 2,240 + 0,118 x;$$
$$R = 0,800; t_R = 3,27;$$
$$N = 8$$

Auch hier kann eine Veränderung der Produktions- bzw. Zehrungsmengen erst zwischen 10 und 50 ppm mit relativer Sicherheit angenommen werden.

Zusammenfassend ist festzustellen:

Die O_2 -Nettoproduktion wird durch 50 ppm um ca. 15 % erhöht und die O_2 -Zehrung um ca. 11 %

gehemmt, woraus sich eine Zunahme der O_2 -Bruttoproduktion um ca. 8 % errechnet.

IV.2.2.2.B. Zelldichte und Artenzusammensetzung

Unter dem Einfluß von 50 ppm 2,4-D ist die Abnahme von *Rhodomonas minuta* (Nr. 11, Tab. 6) um 20 - 40 % geringer als in den Kontrollen. *Crucigenia quadrata* (Nr. 15) weist unter dieser 2,4-D-Konzentration bei Testende eine um 10 - 25 % geringere Zellzahl auf als in den Kontrollen (Tabelle 11 und 12).

Diese Ergebnisse liegen jedoch zu nahe an den Fehlergrenzen der Zählmethode und können deshalb nicht weiter berücksichtigt werden.

IV.2.2.2.C. Chlorophyll

Alle gemessenen Veränderungen des Chlorophyllgehaltes der Algen bewegten sich innerhalb der möglichen Bestimmungsfehler, weshalb kein Nachweis über eine Beeinflussung des Chlorophyllgehaltes der Algen durch 2,4-D erbracht werden konnte.

IV.2.2.2.D. Schlußfolgerungen

Es ist weder eine Beeinflussung der Zelldichte noch einzelner Algentaxa durch 2,4-D nachgewiesen. Der Chlorophyllgehalt der Algen wird ebenfalls nicht wesentlich beeinträchtigt.

Als sicheres Ergebnis ist nur eine leichte Erhöhung der O₂-Nettoproduktion um ca. 15 % und eine Reduktion der O₂-Zehrung bei Lichtausschluß um ca. 11 % durch 50 ppm 2,4-D herauszustellen. Sofern diese O₂-Zehrung bei Lichteinwirkung ebenso gehemmt wird, liegt eine geringfügige Zunahme der O₂-Bruttoproduktion um ca. 8 % durch 50 ppm vor, d.h. die Erhöhung der O₂-Nettoproduktion wäre das Resultat der Hemmung der O₂-Zehrung und geringen Förderung der O₂-Bruttoproduktion.

IV.2.2.3. Pentachlorphenol (0,05 - 1,0 ppm)

IV.2.2.3.A. O₂-Produktion und O₂-Zehrung

Der Einsatz von PCP führt bei Konzentrationen über 0,05 ppm zu einer starken Hemmung der O₂-Nettoproduktion (Abb. 105) - bis zu 55 - 75 % bei 1,0 ppm gegenüber den Kontrollen:

$$y = - 66,079 - 22,616 \ln x; R = - 0,951; t_R = 9,26; \\ N = 11 (t_{0,05(9)} = 2,26)$$

Die O₂-Zehrung (Abb. 106) wird um bis zu ca. 20 % (durch 1,0 ppm) erhöht:

$$y = 21,454 + 7,837 \ln x; R = 0,873; t_R = 5,06; N = 10 \\ (t_{0,05(8)} = 2,31)$$

Die berechnete O₂-Bruttoproduktion (Abb. 107) unterliegt einer erheblichen Hemmung - bis zu 55 % durch 1,0 ppm:

$$y = -46,428 - 15,569 \ln x; R = -0,956; t_R = 9,81; N = 11$$

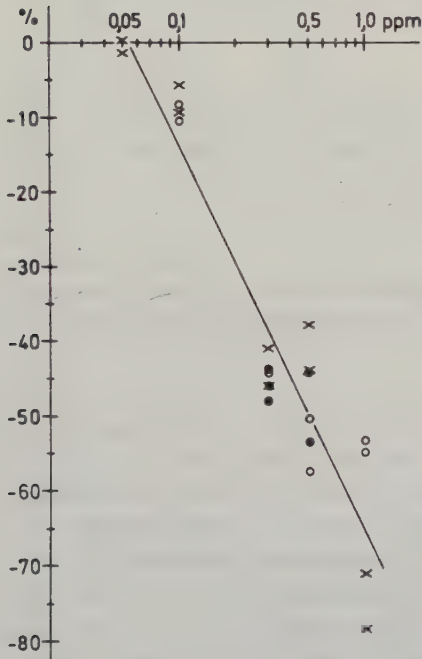


Abb.105. Prozentuale Veränderung der O₂-Nettoproduktion im Freiland unter PCP-Einfluß.

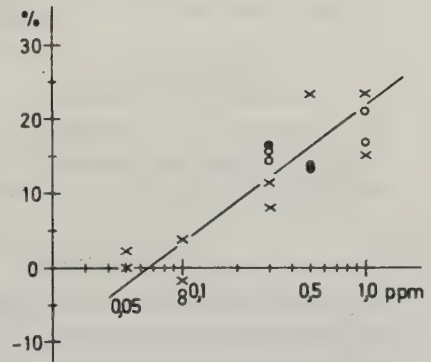


Abb.106. Prozentuale Veränderung der O₂-Zehrung in Dunkel-Flaschen im Freiland unter PCP-Einfluß.

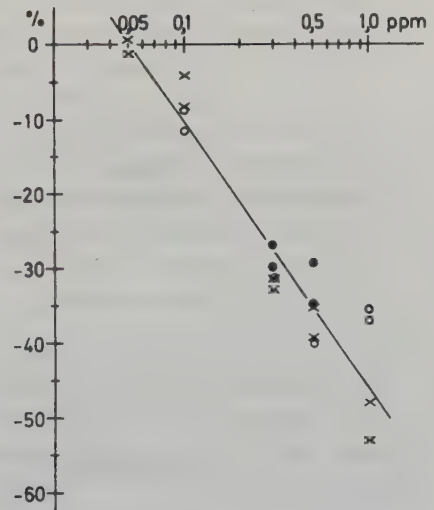


Abb.107. Prozentuale Veränderung der berechneten O₂-Bruttoproduktion im Freiland unter PCP-Einfluß.

IV.2.2.3.B. Zelldichte und Artenzusammensetzung

1,0 ppm PCP führen weder zu einer auffallenden Veränderung der Algenzusammensetzung noch der Gesamtzahl (Tab. 13, 14, 15).

IV.2.2.3.C. Chlorophyll

Die Konzentration von aktivem Chlorophyll a und die Chlorophyll-Fluoreszenz wurden auch unter dem Einfluß von PCP innerhalb der Versuchszeit nicht nachweisbar verändert.

IV.2.2.3.D. Schlußfolgerungen

Die Untersuchungsergebnisse über die Zelldichte, Taxazusammensetzung und Chlorophyllkonzentration konnten keine PCP-Wirkung auf diese Parameter nachweisen.

Es waren ausschließlich Effekte auf die O₂-Produktion und O₂-Zehrung festzustellen. Über 0,05 ppm wird die O₂-Nettoproduktion in Abhängigkeit von der logarithmischen Konzentrationszunahme - bis um durchschnittlich 66 % durch 1,0 ppm - gehemmt. Die Zunahme der O₂-Zehrung bei Lichtausschluß - bis zu ca. 20 % durch 1,0 ppm - kann nicht die einzige Erklärung dafür sein. Es muß eine Hemmung der O₂-Bruttoproduktion, d.h. der Photosynthese, vorliegen. Laut Berechnung wird sie über 0,05 ppm mit logarithmisch zunehmender Konzentration - um bis zu durchschnittlich 46 % - gehemmt.

IV.2.2.4 p-Nitrophenol (1,0 - 50 ppm)

IV.2.2.4.A. O₂-Produktion und O₂-Zehrung

p-Nitrophenol hat in einer Konzentration von 1,0 und 10 ppm keine nachweisbare Wirkung auf die O₂-Nettoproduktion (Abb. 108). 50 ppm verringern dagegen die O₂-Nettoproduktion um 115 - 120 %.

Der Verlauf der prozentualen Veränderung der O₂-Zehrung läßt sich sehr gut mit einer durchgehenden Funktion beschreiben (Abb. 109):

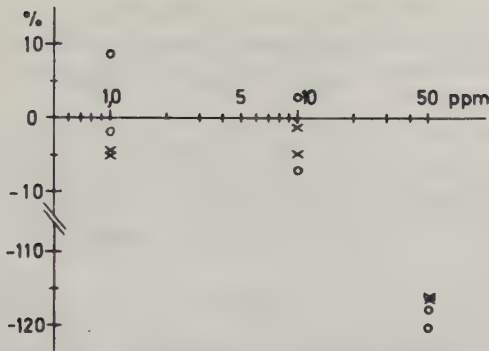


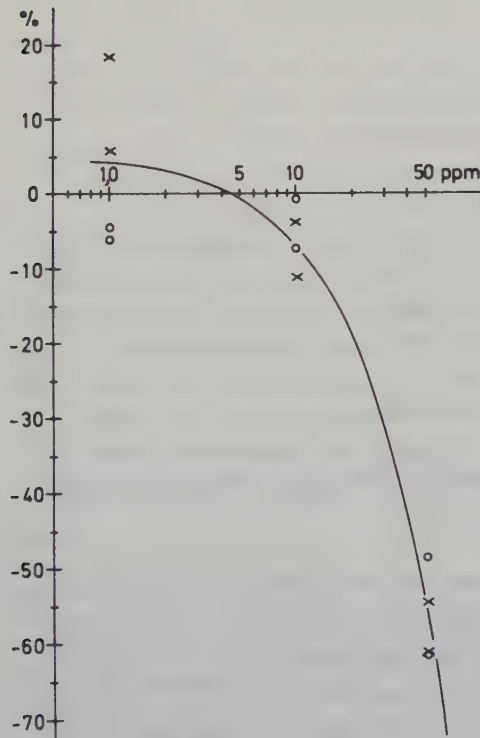
Abb. 108. Prozentuale Veränderung der O₂-Nettoproduktion im Freiland unter p-Nitrophenoleinfluß.

$$y = 5,575 - 1,246 x;$$

$$R = - 0,981; t_R = 10,10;$$

$$N = 6 (t_{0,05}(4) = 2,78)$$

Bei 10 ppm deutet sich bereits der hemmende Einfluß von p-Nitrophenol an. 50 ppm verringern die O₂-Zehrung um 50 - 60 %.



Eine signifikante Hemmung der berechneten O₂-Bruttoproduktion ist bis 10 ppm nicht nachweisbar. 50 ppm bringen die O₂-Bruttoproduktion zum völligen Erliegen (Abb. 110).

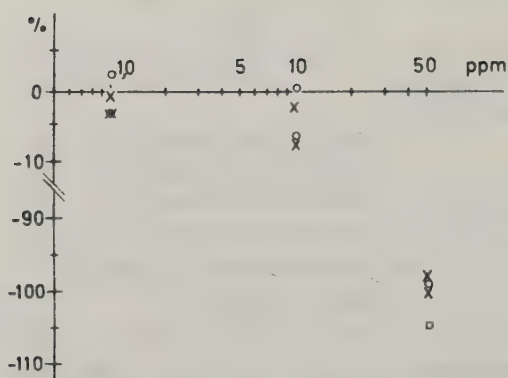
Als bewiesen sind nur folgende, durch 50 ppm p-Nitrophenol verursachte, Hemmwerte anzusehen:

O₂-Nettoproduktion ca. 117 %,

O₂-Zehrung ca. 57 %,

daraus berechnet wurde:
O₂-Bruttoproduktion ca. 100 %.

Abb. 109. Prozentuale Veränderung der O₂-Zehrung in Dunkel-Flaschen im Freiland unter p-Nitrophenoleinfluß.



Inwieweit diese hohen Hemmwerte mit einer Reduzierung der Algendichte in Verbindung stehen, zeigen die Ergebnisse im folgenden Kapitel.

Abb. 110. Prozentuale Veränderung der berechneten O_2 -Bruttoproduktion im Freiland unter p-Nitrophenoleinfluß.

IV.2.2.4.B. Zelldichte und Artenzusammensetzung

p-Nitrophenol ist die einzige Substanz, die zu einer deutlichen Verringerung der Gesamtzahl der Algen führt. Bei einer Konzentration von 50 ppm ist die Summe der Algenzellen um 64 % (Tabelle 16) bzw. 71 % (Tabelle 17) bei Testende gegenüber den Kontrollen herabgesetzt. Zurückzuführen ist diese Verringerung hauptsächlich auf die völlige Auslöschung von *Rhodomonas minuta* (Nr. 11) und die drastische Reduzierung um 95 - 98 % der unter Nr. 27 in den Tabellen zusammengefaßten ein- oder zweigeißligten Algen und Sporen unter 5 μ m Durchmesser. Aber auch andere Spezies sind von der p-Nitrophenol Wirkung betroffen:

Defizit gegenüber den Kontrollen bei Versuchsende:

- Oocystis* sp. (Nr. 3): 18 % und 54 %
- Crucigenia quadrata* (Nr. 15): 29 % und 34 %
- Lagerheimia* sp. (Nr. 22): 27 % und 16 %
- "Sonstige", nicht bestimmte Arten (Nr. 28): 55 % und 60 %.

Bei 10 ppm sind diese auffallenden Ergebnisse weitgehend nicht mehr zu beobachten (Tabellen 18 und 19). Nur noch die unter

Nr. 27 zusammengefaßten begetrierten Kleinalgen und Sporen sind am Testende gegenüber den unbelasteten Flaschen um ca. 30 % reduziert. Die Gesamtsumme ist um 7 % bzw. 12 % verringert.

Diese Verringerung der Algendichte müßte sich auch in einer Reduzierung der Chlorophyllkonzentration ausdrücken, die in diesem Fall natürlich nicht zellbezogen gesehen werden könnte (vgl. nachfolgendes Kapitel).

IV.2.2.4.C. Chlorophyll

Wie die vorstehend beschriebenen Ergebnisse zeigen, ist p-Nitrophenol die einzige der Testsubstanzen, bei der ein Absterben der Algen im Versuchszeitraum nachweisbar war. Dieser Effekt tritt allerdings erst bei einer Konzentration von 50 ppm auf. Diese Tatsache muß hier noch einmal wiederholt werden, da die Abnahme des aktiven Chlorophylls a auf ca. 50 % vom Ausgangswert (Abb. 111) in diesem Fall keine Abnahme des

Zellchlorophyllgehaltes ist, sondern mit der Abnahme der Zellzahl zusammenhängt. Die Funktion der $\text{Chl}_{tS}/\text{Chl}_0$ -Werte von aktivem Chlorophyll a nimmt bei 50 ppm den entgegengesetzten Verlauf zur Funktion der $\text{Chl}_{tR}/\text{Chl}_0$ -Werte:

Abb. 111:

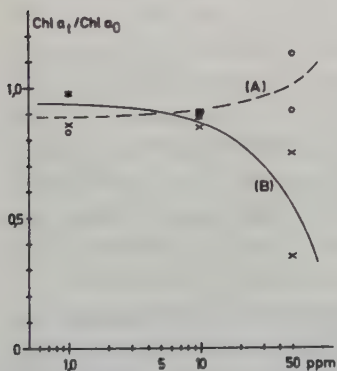


Abb.111. Verhältnis der Konzentration an aktivem Chlorophyll a bei Testende zur Konzentration bei Testbeginn ($\text{Chl}_t/\text{Chl}_0$) in den Hell-Flaschen der p-Nitrophenol-Versuchsreihe. $\circ$: Kontrollen; $\times$: mit p-Nitrophenol.

(A) $\text{Chl}_{tR}/\text{Chl}_0$:

$$y = 0,889 + 0,00256 x;$$

$$R = 0,580; t_R = 1,59; N = 7$$

$$(t_{0,05}(5) = 2,57)$$

(B) $\text{Chl}_{tS}/\text{Chl}_0$:

$$y = 0,947 - 0,00785 x;$$

$$R = -0,810; t_R = 3,09; N = 7.$$

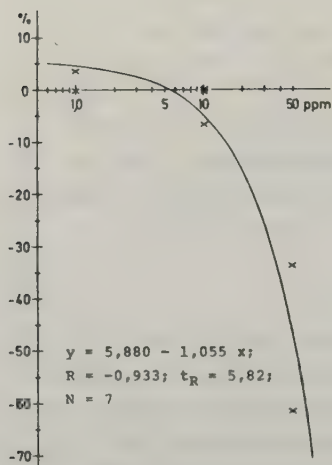


Abb. 112. Prozentuale Differenz des Chlorophyllverhältnisses (aktives Chlorophyll a) - Testende zu Testbeginn - zwischen den Hell-Flaschen mit und ohne p-Nitrophenol.

Die Steigungen der beiden Funktionen unterscheiden sich signifikant voneinander: $t_b = 3,46$ ($t_{0,05}(10) = 2,23$).

Besonders deutlich wird die Abnahme an aktivem Chlorophyll a durch die Berechnung der prozentualen Differenz zwischen Chl_{t_S}/Chl_0 und Chl_{t_R}/Chl_0 (Abb. 112). Schon bei 10 ppm deutet sich die bis 50 ppm drastisch zunehmende Abnahme an aktivem Chlorophyll a an.

Diese Ergebnisse entsprechen den Erwartungen aus den Befunden über die Algendichte und -zusammensetzung.

IV.2.2.4.D. Schlußfolgerungen

Die durch 50 ppm-p-Nitrophenol verursachte Hemmung von O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung steht im Zusammenhang mit dem Absterben der Algen (bei Testende sind 64 % bzw. 71 % weniger Zellen vorhanden als in den Kontrollen), welches durch die Chlorophyllbefunde bestätigt wird. Besonders betroffen sind Rhodomonas minuta (Nr. 11, Tab. 6) und die unter Nr. 27 (Tab. 6) zusammengefaßten ein- und zweigeißligen Algen und Sporen unter 5 μm Durchmesser. Eine Vermutung über Ursachen dieser selektiven Wirkung soll in der Diskussion erörtert werden. Ebenfalls Gegenstand der Diskussion muß die Frage sein, ob die bisher noch nicht erwähnte Gelbfärbung der Wasserproben durch p-Nitrophenol Mitverursacher der festgestellten Wirkung sein könnte.

IV.2.2.5. Zusammenfassender Vergleich der Wirkungen der vier Testsubstanzen

Abgesehen von den 50 ppm-p-Nitrophenol-Versuchen war das Verhältnis zwischen Ausgangs- und Endzell-dichte bei allen Test-chemikalien enthaltenden Hell-Flaschen kaum verschieden vom Kontrollwert (1,004): Durchschnittliches Verhältnis von Testbeginn zu Testende = 0,998 ($s = 0,075$; $N = 9$); zwei "Ausreißer" wurden nach t-Test ausgesondert. Die Mittelwerte 1,004 und 0,998 unterscheiden sich nicht signifikant voneinander: $t_{\bar{x}} = 0,13$ ($t_{0,05(18)} = 2,10$).

Folglich sind, bis auf die genannte Ausnahme, alle gefundenen Veränderungen der Chlorophyllkonzentration Veränderungen im Zellchlorophyllgehalt, und stehen Veränderungen der O₂-Produktion und O₂-Zehrung nicht im Zusammenhang mit einer evtl. Abtötung der Algen.

Atrazin hemmt über 0,01 ppm die O₂-Produktion bis zur völligen Unterbindung durch 1,0 ppm. Da die O₂-Zehrung im Dunkeln unter 10 ppm unbeeinflusst bleibt, ist diese Hemmung (unter den bekannten Einschränkungen) auf einen direkten Einfluß auf die O₂-Bruttoproduktion, d.h. die Photosyntheseleistung zurückzuführen. Der durch Chlorophyll-Fluoreszenzmessung gefundene Chlorophyllabbau von ca. 40 % durch 1,0 ppm (60 % durch 10 ppm) bestätigt dies.

Die untersuchten **2,4-D**-Konzentrationen wirken sich nur in sehr geringem Maße aus. Die O₂-Nettoproduktion wird durch 50 ppm um ca. 15 % erhöht, die O₂-Zehrung um ca. 11 % reduziert.

P C P dagegen wirkt wiederum sehr drastisch auf die O₂-Produktion und O₂-Zehrung. Die O₂-Nettoproduktion wird bis zu 66 % durch 1,0 ppm gehemmt. Die O₂-Zehrung steigt durch 1,0 ppm um ca. 20 %. Die daraus errechnete O₂-Bruttoproduktion unterliegt einer Hemmung durch 1,0 ppm um ca. 46 %.

Im Gegensatz zur Atrazinwirkung ist diese Hemmung nicht mit einem Chlorophyllabbau verknüpft, was in der Diskussion zu erörternde Rückschlüsse auf die physiologische Wirkungsweise zuläßt.

p-Nitrophenol schädigt als einzige der Testchemikalien die Algen derart, daß ihre Anzahl durch 50 ppm um 64 % bzw. 71 % reduziert wurde. Die Hemmung von O₂-Produktion und O₂-Zehrung ist offensichtlich darauf zurückzuführen.

V. DISKUSSION

Nach der Darstellung aller Ergebnisse sollen in der Diskussion folgende Fragen erörtert werden:

1. Stimmen die erhaltenen Ergebnisse mit den bekannten physiologischen Wirkungen der Testchemikalien überein?
2. Inwieweit sind die Laborergebnisse im Freiland wiederzufinden?
3. Welche Rückschlüsse lassen die Ergebnisse auf das biotisch bedingte O_2 -Gleichgewicht eines Gewässers zu?
4. Erfüllt das erarbeitete Testsystem die gestellten Voraussetzungen?

V.1. Übereinstimmung der Ergebnisse mit den bekannten physiologischen Wirkungsweisen

V.1.1. Atrazin

Die Befunde über den Einfluß von Atrazin auf die Wachstumsraten, den Chlorophyllgehalt der Zellen, die pH-Veränderungen und O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung führen zu dem eindeutigen Ergebnis, daß Atrazin im wesentlichen eine Hemmung der O_2 -Produktion bewirkt, während die O_2 -Zehrung praktisch unbeeinflusst bleibt. Die berechnete Hemmung der O_2 -Bruttoproduktion spricht besonders für die direkte Wirkung auf die Photosynthese.

Wegen dieser spezifisch photosynthesehemmenden Eigenschaft wurde eine Veränderung des Ausmaßes der photosyntheseabhängigen O_2 -Bruttoproduktionshemmung durch unterschiedliche Lichtstärken erwartet. Diese Vermutung findet insbesondere ihre Bestätigung in der Berechnung der Aktivität: zwischen 50 und 400 $\mu E/m^2 sec$ wird diese unabhängig von der Lichtstärkeveränderung um durchschnittlich 23 % gehemmt; diese Hemmung nimmt unter 50 und über 400 $\mu E/m^2 sec$ erheblich zu (auf 80 - 85 % bei 1 $\mu E/m^2 sec$, auf ca. 75 % bei 850 $\mu E/m^2 sec$).

Die Befunde über die lichtstärkeabhängige Beeinflussung des Zellchlorophyllgehaltes durch 0,2 ppm Atrazin weisen auf einen besonderen Effekt hin: Geringe Atrazinkonzentrationen bewirken bei Algen eine Erhöhung des Zellchlorophyllgehaltes, den sogenannten "Greening Effect" (85). Während innerhalb der Versuchsdauer bei den Kontrollen bei Lichtstärken bis $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ der durch aktives Chlorophyll a bestimmte Zellchlorophyllgehalt um durchschnittlich 177 % ansteigt, steigt er unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin um durchschnittlich 271 %; die Chlorophyll-Fluoreszenzmessung erbrachte niedrigere Werte (Kontrolle 71 %, 0,2 ppm Atrazin 122 %). Dieser "Greening Effect" verschwindet erst bei Lichtstärken, die auch in den Kontrollen keine Zunahme des Chlorophyllgehaltes mehr zulassen ("Gleichgewichtslichtstärke"). Auch hier führen die Chlorophyllbestimmungsmethoden zu unterschiedlichen Ergebnissen: Aktives Chlorophyll a ca. $200 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$, Chlorophyll-Fluoreszenz ca. $100 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$. Diese Werte bestätigen im Nachhinein den bei einheitlicher Lichtstärke ($150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$) durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a gefundenen, etwas höheren Chlorophyllgehalt (2,5 - 35 %) der Zellen durch 0,25 ppm Atrazin bei Testende. Bei Werten über diesen "Gleichgewichtslichtstärken" führen 0,2 ppm Atrazin zu einer Erhöhung des in den Kontrollen festgestellten Chlorophyllabbaues. Im Freiland (die Lichtstärken lagen immer über $200 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$) war bei mehr als 0,01 ppm Atrazin ebenfalls eine chlorophyllabbauende Wirkung festzustellen.

Die Unterschiede in den gemessenen Chlorophyllveränderungen durch Bestimmung von aktivem Chlorophyll a einerseits und Chlorophyll-Fluoreszenz andererseits mögen darauf zurückzuführen sein, daß bei der Bestimmung des aktiven Chlorophylls a das gesamte Chlorophyll a der Zelle, aus Photosystem I und II, herangezogen wird, während die Chlorophyll-Fluoreszenzmessung hauptsächlich auf einer Reaktion des Photosystems II basiert (73); Photosystem II enthält außer Chlorophyll a auch Chlorophyll b und andere akzessorische Pigmente (128).

V.1.2. 2,4-Dichlorpenoxyessigsäure

Da 2,4-D hauptsächlich auf höhere Pflanzen in auxinähnlicher Weise wachstumsbeschleunigend wirkt, lassen sich, wie zu erwarten war, nur wenige Ergebnisse mit diesem Effekt in Zusammenhang bringen.

Die im Bereich von 0,1 - 5 ppm 2,4-D im Laborversuch bei Lichteinwirkung durchschnittlich um 4,8 % erhöhte Wachstumsrate könnte auf einen die Zellteilung erhöhenden 2,4-D-Effekt hinweisen. Nachdem bei Chlorella- und Scenedesmus-Kulturen ansteigende Teilungsraten durch Auxinzugaben gefunden worden sind (128), ist ein derartiger Effekt aufgrund der auxinähnlichen Wirkung von 2,4-D denkbar. Das gefundene Abklingen dieses Effektes bei 10 ppm kann durch gesteigerte Zellschädigung erklärt werden. Im Freiland weist lediglich die gegenüber den Kontrollen um 20 - 40 % geringere Abnahme von Rhodomonas minuta bei Einsatz von 50 ppm auf einen derartigen Effekt hin; zwei Versuchsdurchgänge sind jedoch für eine Absicherung dieses Ergebnisses zu wenig.

Bei Lichtausschluß wirkt 2,4-D dagegen ausschließlich hemmend. Im Laborversuch wird die Wachstumsrate durch 0,1 - 5 ppm um durchschnittlich 6,7 %, durch 10 ppm um ca. 63 %, und die O₂-Zehrung bis zu 30 % - durch 10 ppm - gehemmt; im Freiland wird die O₂-Zehrung durch 50 ppm um ca. 11 % gehemmt. Die auxinähnliche zellteilungsfördernde Wirkung scheint sich nur bei Lichteinwirkung durchzusetzen.

V.1.3. Pentachlorphenol

Sowohl im Labor wie auch Freilandversuch wird die atmungskoppelnde Wirkung von PCP bestätigt. Die O₂-Zehrung nimmt um max. 40 % (Regressionswert) durch 0,1 ppm bzw. ca. 20 % durch 1,0 ppm zu, ohne daß eine ähnliche Tendenz in der Wachstumsrate feststellbar ist; d.h. die O₂-Zehrungszunahme ist im Wesentlichen auf eine Atmungssteigerung zurückzuführen.

Besonders interessant ist in diesem Zusammenhang die aus den Laborergebnissen berechnete Erhöhung der O_2 -Bruttoproduktion um ca. 11 % durch 0,05 und 0,1 ppm. Man könnte dies als "Versuch der Zelle" beschreiben, den durch die Atmungskoppelung bedingten ATP-Mangel durch Photosyntheseerhöhung auszugleichen - die Photosyntheseleistung kann erhöht werden, da durch Atmungskoppelung mehr ADP zur Verfügung steht (42) - (ein ähnlicher Effekt vgl. p-Nitrophenol). Unterstützung findet diese Theorie im gefundenen PCP-bedingten Chlorophyllabbau ausschließlich bei Dunkelheit; dieser ist durch die Auszehrung der Zellen durch die Atmungssteigerung zu erklären, welche unter Lichteinwirkung durch die Photosynthese offensichtlich weitgehend kompensiert werden kann.

Der steile Abfall der O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung von *Ch. fusca* ab 0,5 ppm PCP beruht auf einer eintretenden starken Schädigung der Zellen; damit verbunden ist eine Herabsetzung der Zellteilungsraten um 50 - 60 %.

Die Erhöhung der O_2 -Bruttoproduktion findet sich in den Ergebnissen aus den Versuchen zur Lichtstärkeabhängigkeit der PCP-Wirkung wieder. Die Aktivität ist ab $10 \mu E/m^2 sec$ um ca. 17 % erhöht. Diese Erhöhung ist nicht lichtstärkeabhängig. Unter $10 \mu E/m^2 sec$ scheint die Lichtstärke für diese ausgleichende Aktivitätserhöhung nicht mehr auszureichen, der ATP-Mangel führt zum Zusammenbruch. Die bei Lichtstärken unter $10 \mu E/m^2 sec$ gegenüber den Kontrollen drastisch reduzierte Zunahme des Zellchlorophyllgehaltes (bei $1 \mu E/m^2 sec$ beträgt die Zunahme durch 0,05 ppm nur noch ca. 40 % gegenüber ca. 140 % in den Kontrollen) und die unbeeinflusste Chlorophyllzunahme bei Lichtstärken über $10 \mu E/m^2 sec$ bestätigen diese Zusammenhänge. Eine absolut schlüssige Beweisführung ist nur durch gezielte pflanzenphysiologische Untersuchungen möglich, die jedoch nicht Aufgabe dieser Arbeit waren.

V.1.4. p-Nitrophenol

Die Wirkung des p-Nitrophenols weist klare Parallelen zur PCP-Wirkung auf.

Die O₂-Zehrung steigt im Laborversuch bei Lichtausschluß, wie von einem Atmungsentkoppler zu erwarten, mit zunehmender Konzentration (ab 0,01 ppm) um bis zu 60 - 70 % (durch 10 ppm) linear an.

Vergleicht man den berechneten Verlauf der O₂-Bruttoproduktionsveränderung (Abb. 52) mit der PCP-Funktion (Abb. 40), so werden Parallelen deutlich. Auch unter p-Nitrophenol erreicht die Zunahme der O₂-Bruttoproduktion max. ca. 10 % (durch 5 ppm). In dieser Größenordnung könnte die max. Ausgleichsmöglichkeit liegen, den durch Atmungsentkoppelung hervorgerufenen ATP-Mangel durch Photosynthesesteigerung zu ersetzen. Wie erwähnt bedarf eine Beweisführung exakter pflanzenphysiologischer Untersuchungen.

Die im Freiland gefundene, sich bei 50 ppm deutlich auswirkende Hemmung der O₂-Zehrung muß nicht im Widerspruch zur beschriebenen physiologischen Wirkungsweise des p-Nitrophenols stehen. Es ist durchaus denkbar, daß die atmungsspezifische Schädigung der Zellen durch die eingesetzten Konzentrationen so weit geht, daß die Zellen sehr schnell absterben und es dadurch zu einer Reduzierung der Zehrung kommt. Setzt man eine so drastische Schädigung der Zellen voraus, ist auch die 120 %-ige Hemmung der O₂-Nettoproduktion und die daraus errechnete völlige Unterbindung der O₂-Bruttoproduktion erklärbar. Für diese völlige Schädigung der Zellen durch 50 ppm p-Nitrophenol spricht außerdem der abnehmende Chlorophyllgehalt unter Lichteinwirkung gegenüber der Kontrolle. Dieser Rückgang der Konzentration an aktivem Chlorophyll a ist in diesem Falle nicht zellbezogen, sondern die Folge eines Zellsterbens.

50 ppm p-Nitrophenol sind in der Lage, binnen 8 h bestimmte Algenspezies völlig zum Verschwinden zu bringen. So war bei Testende von ursprünglich ca. 2300 bzw. knapp 800 Zellen von *Rhodomonas minuta* pro ml keine einzige mehr unter dem Mikroskop zu finden, von den 1- und 2-geißligten Zellen unter 5 μ m Durchmesser waren 95 - 98 % verschwunden. Auch andere Algenspezies waren, allerdings in etwas geringerem Maße, betroffen. Insgesamt waren bei Lichteinwirkung am Versuchsende mit 50 ppm p-Nitrophenol 64 % bzw. 71 % weniger Zellen nachweisbar als in den Kontrollen. Beim Einsatz von lediglich 10 ppm p-Nitrophenol war dieses Massensterben nicht mehr zu beobachten.

Ein Faktor der aufgrund der spezifischen Wirksamkeit des p-Nitrophenols unter Lichtausschluß bei den Labortests vernachlässigt werden konnte, darf in Anbetracht des Zellsterbens der Seepopulation bei Lichteinwirkung nicht mehr vergessen werden: Die intensive pH-abhängige Gelbfärbung des Wassers durch p-Nitrophenol. Abb. 113 zeigt die spektrale Durchlässigkeit von

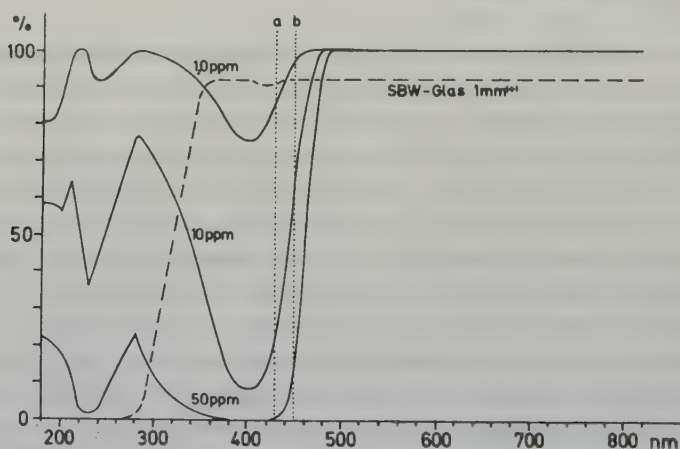


Abb. 113. Relative spektrale Durchlässigkeit von p-Nitrophenollösungen mit 1 cm Schichtdicke (gemessen in 1 cm Quarzglasküvetten), mit Absorptionsmaxima von (a) Chlorophyll a und (b) Chlorophyll b in Ether und spektrale Durchlässigkeit von SBW-Glas (129) (+).

p-Nitrophenollösungen (1,0 ppm, 10 ppm und 50 ppm in destilliertem Wasser bei pH 8,0). Außerdem sind die kurzwelligen Absorptionsmaxima von Chlorophyll a (429 nm) und Chlorophyll b (453 nm) in Ether (47) eingetragen. "Im Aktionsspektrum von Chlorella fällt die max. Photosynthese-Aktivität mit den Absorptionsgipfeln der Chlorophylle im roten und blauen Spektralbereich zusammen..." (87). Der Abb. 113 ist zu entnehmen, daß eine 1 cm dicke Schicht einer 10 ppm bzw. 50 ppm p-Nitrophenol enthaltenden wässrigen Lösung für Licht der Wellenlänge des Absorptionsmaximums von Chlorophyll a nur noch zu 25 % bzw. gar nicht mehr durchlässig ist. Licht der Wellenlänge des Absorptionsmaximums von Chlorophyll b wird nur noch zu 65 % bzw. 15 % durchgelassen. Es ist durchaus denkbar, daß außer der chemisch-physiologischen Wirkung von p-Nitrophenol auch die Veränderung der spektralen Lichtzusammensetzung für die geschilderten Auswirkungen auf die Phytoplanktonpopulation verantwortlich ist, was aber im Rahmen dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden kann.

V.2. Vergleichbarkeit der Laborergebnisse mit den Freiland- ergebnissen

V.2.1. Atrazin

Die Ergebnisse der Labor- und Freilandversuche stimmen darin überein, daß Atrazin in den untersuchten Konzentrationen auf die Photosynthese einwirkt, was sich in der Hemmung der O₂-Bruttoproduktion ausdrückt, während die O₂-Zehrung im wesentlichen unbeeinflusst bleibt. Bei *Ch. fusca* (Laborversuche) beginnt diese Hemmung ab 0,1 ppm (ca. 5 %), erreicht bei 0,2 ppm ca. 30 % und ist bei 1,0 ppm vollständig. Vergleichbare Werte wurden bei Versuchen mit *Ch. pyrenoidosa* (99) gefunden (z.B. völlige Unterbindung der O₂-Produktion durch 1,0 ppm).

Unterschiede zwischen den Ergebnissen aus Labor- und Freilandversuchen sind im Ausmaß der Hemmung zu finden. Während im Laborversuch bei 0,1 ppm die Nachweisgrenze einer Beeinflussung der O₂-Produktion erreicht ist, ist im Freiland bei

dieser Atrazinkonzentration die O₂-Nettoproduktion noch um 75 % - 80 % und die O₂-Bruttoproduktion um ca. 60 % - 65 % gehemmt. Erst bei 0,01 ppm ist die Nachweisgrenze erreicht. Die Funktionsverläufe der Freilandergebnisse sind durch einen raschen Hemmungsanstieg über 0,01 ppm Atrazin gekennzeichnet, der bei 0,1 ppm flacher wird, und erreichen ebenso wie im Labortest die absolute Hemmung bei 1,0 ppm.

V.2.2. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure

Der Einfluß von 2,4-D auf die untersuchten Parameter ist sowohl im Labor-, wie auch Freilandversuch relativ gering.

Die O₂-Nettoproduktion unterliegt in beiden Fällen bis zu einer Konzentration von 10 ppm keiner signifikanten Beeinflussung. Erst die nur im Freilandversuch eingesetzte hohe Konzentration von 50 ppm führt dort zu einer geringen Erhöhung um ca. 15 %.

Die O₂-Zehrung unter Lichtausschluß wird sowohl im Labor als auch Freiland etwas reduziert. Sie reagiert bei *Ch. fusca* empfindlicher als bei der Algenpopulation des Sees. Um eine ca. 11 %-ige Hemmung zu erreichen, müssen im See 50 ppm eingesetzt werden, in der *Chlorella*-Kultur nur 0,5 ppm. Der Zusammenhang zwischen Hemmung der O₂-Zehrung und Verringerung der Wachstumsrate bei *Ch. fusca* unter Lichtausschluß konnte im Freilandversuch aufgrund der kurzen Versuchsdauer von 8 h und der beschriebenen methodischen Einschränkungen nicht gefunden werden.

V.2.3. Pentachlorphenol

Die atmungsentkoppelnde Wirkung von PCP kommt sowohl im Labor als auch Freilandversuch zum Ausdruck. Sie findet ihre Bestätigung in der Zunahme der O₂-Zehrung, die, wie die Ergebnisse zeigen, im wesentlichen die direkte Folge einer Atmungsbeschleunigung ist.

Vergleicht man jedoch die dazu notwendigen PCP-Konzentrationen, so scheinen einige Unstimmigkeiten vorzuliegen. Die O₂-Zehrung reagiert im Freilandversuch weniger empfindlich als im Labortest. Um im Freiland erste Auswirkungen feststellen zu können, müssen 10 mal höhere PCP-Konzentrationen angewendet werden als im Labortest. Außerdem ist der Funktionsverlauf im Freilandversuch flacher, d.h. die Schädigung steigt mit zunehmender Konzentration nicht so stark an (die Steigungen (Abb. 39 und 106) sind signifikant voneinander verschieden: $t_b = 3,27$; $N = 32$ ($t_{0,05(28)} = 2,05$)). Erklärungen dafür sind in zwei grundsätzlichen Unterschieden zwischen den Labor- und Freilandversuchen zu finden: Zum einen betrug die Versuchsdauer im Freiland nur 8 h, gegenüber 48 h im Labor, zum anderen lagen unterschiedliche pH-Bedingungen vor. Die pH-Werte lagen im Labor bei Lichtausschluß zwischen 6,0 und 6,6, im Freiland dagegen zwischen 7,9 und 8,5. Es ist eine bekannte Tatsache, daß die physiologische Aktivität von substituierten Phenolen von ihrem Dissoziationsgrad und damit dem pH-Wert des Lösungsmittels abhängt (123, 130) (die LC₅₀ von PCP für den Süßwasserfisch *Notopterus notopterus* ist bei pH 8,8 um ca. 7 mal höher als bei pH 6,0 (130)).

Konzentrationen von mehr als 0,1 ppm haben sowohl auf *Ch. fusca* als auch auf die Algenpopulation im See einen so stark schädigenden Einfluß, daß die O₂-Produktion beachtlich reduziert wird; bei *Ch. fusca* treten dabei bereits deutliche Zellschädigungen (reduzierte Wachstumsrate und Chlorophyllverlust) auf.

V.2.4. p-Nitrophenol

Die in den Laborversuchen gefundene, für atmungsentkoppelnde Chemikalien typische Steigerung der O₂-Zehrung konnte unter Freilandbedingungen nicht nachgewiesen werden. Die Freilandergebnisse stehen jedoch deshalb nicht in unbedingtem Widerspruch zu den Laborergebnissen. Erklärungen dazu sind bereits in Kap. V.1.4. beim Vergleich der Ergebnisse mit den bekannten

physiologischen Daten gegeben worden und sollen an dieser Stelle nicht wiederholt werden. Die Differenzen seien lediglich kurz zusammengefaßt: Im Laborversuch werden durch 10 ppm die O₂-Nettoproduktion um ca. 30 % gehemmt und die O₂-Zehrung um 60 - 70 % gefördert, während im Freilandversuch bis zu dieser Konzentration keinerlei Effekte auftreten. 50 ppm (im Labor nicht untersucht) führen zu einem Zusammenbruch der O₂-Produktion und einer Hemmung der O₂-Zehrung um ca. 60 %. Die durch Verwendung von 50 ppm im Freilandversuch festgestellte Vernichtung einzelner Algentaxa kann nicht mit Laborergebnissen verglichen werden, da im Labor nur max. 10 ppm eingesetzt wurden. Mögliche Ursachen dafür werden im nächsten Abschnitt bei der Betrachtung der Ergebnisse in Bezug auf O₂-Produktion und O₂-Zehrung in Seen genannt.

V.3. Bedeutung der Ergebnisse in Bezug auf die O₂-Produktion und O₂-Zehrung in Seen

Von den untersuchten Chemikalien hat **Atrazin** auf das Gleichgewicht des biotischen O₂-Umsatzes den größten Einfluß. 1,0 ppm reichen aus, um die Photosynthese zum völligen Erliegen zu bringen, was bei weiter funktionierender O₂-Zehrung einen erheblichen O₂-Verlust des Gewässers bedeutet. Gegenüber niedrigeren Konzentrationen ist die Freilandpopulation empfindlicher als die Laborkultur. 0,1 ppm Atrazin reduzieren im Freilandversuch die O₂-Nettoproduktion bis zu 80 %, Werte von knapp über 0,01 ppm wirken bereits nachweisbar hemmend, sind also in der Lage, die notwendige biologische O₂-Zufuhr in einem Gewässer zum Teil zu unterbinden. Von besonderer Bedeutung für einen in der Sommerstagnation stabil geschichteten See sind die Ergebnisse der lichtstärkeabhängigen Atrazinwirkung im Labortest. Aufgrund der im Freiland gefundenen höheren Empfindlichkeit gegenüber Atrazin können die Laborergebnisse wohl als "Mindestauswirkung" im See betrachtet werden.

Meist (im Fasanerie See in früheren Untersuchungen nachgewiesen (66)), beginnt die O₂-Verarmung im eutrophen See aufgrund

Sedimentation und Abbau von abgestorbenen Organismen und mangelndem Licht durch hohe Phytoplanktonkonzentrationen am Seegrund. Im Laufe des Sommers wandert die O₂-arme und z.T. O₂-freie Zone langsam nach oben. Der Grad der Eutrophierung entscheidet darüber, ob die O₂-Armut den ganzen See erfäßt, was letztendlich zum "Umkippen" führen kann. Sehr viele unserer Seen sind so stark eutrophiert, daß sie in jedem Spätsommer knapp vor dem "Umkippen" stehen. Der Verlauf der O₂-Bruttoproduktions-Aktivitäts-Kurve unter Einfluß von 0,2 ppm Atrazin (Abb. 86) macht klar, daß es nicht allein wichtig ist, die durchschnittliche Atrazinkonzentration in einem See zu kennen: Auch die Kenntnis ihrer vertikalen Verteilung ist von besonderer Bedeutung. Seezuflüsse haben eine bestimmte Temperatur, und diese Temperatur ist entscheidend für ihre Einschichtungstiefe im See. Grundwasser hat meist die gleiche Temperatur wie das Seewasser im Hypolimnion, Oberflächenwasser wie das Seewasser in Epi- oder Metalimnion. Wird Atrazin durch das Grundwasser zugeführt, so können auch bei niedrigeren Atrazinkonzentrationen die Folgen für einen See besonders gravierend sein. In Tiefen mit Lichtstärken von weniger als 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ (im Fasanerie-See unter 6 m) würden Atrazinkonzentrationen, die bei stärkerem Licht nur wenig Wirkung zeigen, zu einer drastischen Reduzierung der ohnehin schwachen Photosyntheseleistung führen. Dementsprechend wird sich die O₂-freie Zone sehr viel schneller in dieser Tiefe ausbreiten. Je eutropher ein See ist, desto höher ist seine Phytoplanktondichte und desto stärker die Lichtabsorption. Die "atrazinempfindliche" Zone liegt entsprechend höher und ein bisher vom "Umkippen" bedrohter See ist endgültig dazu verurteilt. Die biologische Selbstreinigung, vor allem charakterisiert durch oxydative Prozesse, der durch zunehmende organische Belastung unserer Seen eine gesteigerte Rolle zukommt, würde gerade in den tieferen Seeschichten, die durch Sedimentation besonders mit organischem Material belastet sind, durch Spuren von Atrazin sehr schnell zum Erliegen kommen. Betrachtet man die ermittelten Schwellenwerte des Atrazins aus den Laborversuchen bei 150 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ von 0,09 ppm und bei 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ von

0,024 ppm und multipliziert den Freilandschwellenwert von 0,0085 ppm mit dem daraus resultierenden Faktor, so resultiert ein Freilandschwellenwert für $10 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ von 0,0023 ppm (= 2,3 ppb). Ein Wert dieser Größenordnung ist durch Herbizideinsatz durchaus vorstellbar. Der Bezug auf den Freilandschwellenwert von 0,0085 ppm scheint gerechtfertigt, da er bei Lichtstärken (durchschnittlich $289 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$) gemessen wurde, die zusammen mit $150 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ in den lichtstärkeunabhängigen Hemmungsbereich fallen.

PCP verringert bei Lichtstärken von 200 - $400 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ die O_2 -Nettoproduktion des Seephytoplanktons erst in Konzentrationen über 0,05 ppm. Da auch diese Verbindung die O_2 -Bruttoproduktions-Aktivität von *Ch. fusca* in schwachem Licht erheblich hemmt (zu 75 % bei $1 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$), gilt prinzipiell die gleiche Argumentation wie für Atrazin. Es ist zu erwarten, daß in tieferen Seeschichten meist weniger als 0,05 ppm PCP zu einer Einschränkung der biologischen O_2 -Zufuhr führen. Wie die Laborversuche zeigen, reichen unter bestimmten Bedingungen schon geringfügig mehr als 0,01 ppm PCP aus, um eine Atmungssteigerung hervorzurufen, welche bei Lichtmangel nicht durch Photosynthese kompensiert werden kann und dem See O_2 entzieht. Der Nachweis von 0,15 ppm PCP in Proben aus Freilandböden (125) und 0,081 ppm in einem See (126, 127) stimmt unter diesen Umständen besonders bedenklich.

2,4-D und **p-Nitrophenol** sind offensichtlich Verbindungen, die weniger in der Lage sind, die biotische O_2 -Regulation eines Gewässers zu beeinflussen.

Im Labortest konnte durch **2,4-D** keine Veränderung der O_2 -Nettoproduktion festgestellt werden. Im Freiland führen erst 50 ppm zu ersten Reaktionen; die O_2 -Nettoproduktion wird, wahrscheinlich aufgrund der verringerten O_2 -Zehrung, geringfügig angehoben. Es wäre aber sicherlich falsch, anhand dieser Ergebnisse davon auszugehen, daß 2,4-D, falls es überhaupt in wirksamen Konzentrationen auftritt, auf die Dauer keinen oder

gar einen positiven Effekt auf die biotische O₂-Zufuhr ausüben könnte. Dieses Wuchsstoffherbizid führt in hoher Konzentration auch bei Algen zu Zellschädigungen aus denen Wachstumshemmung resultiert, die auf Dauer nicht nur die O₂-Zehrung reduziert, wie die Ergebnisse der Laborversuche andeuten, sondern auch die O₂-Produktion zum Erliegen bringen kann.

p-Nitrophenol zeigt im Laborversuch, trotz eindeutiger Charakterisierung als Atmungsentkoppler (erhöhte O₂-Zehrung), bis zu einer Konzentration von 5 ppm keinerlei verändernde Wirkung auf die O₂-Nettoproduktion. Erst bei 10 ppm wirkt sich die Atmungszunahme derart aus, daß eine Verminderung der biologischen O₂-Zufuhr resultieren kann. Ein Ausgleich der 10 - 15 %-igen Zunahme der O₂-Zehrung durch die errechnete Erhöhung der O₂-Bruttoproduktion bei 1,0 ppm wird für die Algenzelle auf Dauer kein aufrecht zu erhaltender Streßfaktor sein.

Wahrscheinlich sind eine Reduzierung des O₂-Gehaltes des Seewassers durch erhöhte O₂-Zehrung oder eine Schädigung mit darauf folgendem Sterben der Algen. Die zweite Alternative wird eindeutig im Freilandversuch mit 50 ppm p-Nitrophenol demonstriert. Die O₂-Nettoproduktion bricht völlig zusammen. Algenzellen verschwinden binnen 8 h völlig aus dem Wasser. Eine solche Katastrophe ist jedoch beim jetzigen Stand der Umweltverschmutzung noch nicht zu erwarten. 50 ppm p-Nitrophenol in einem natürlichen Gewässer sind derzeit noch nicht vorstellbar. Die schon bei weit geringerer Konzentration (vgl. Abb. 113) auftretende kräftige Gelbfärbung des Wassers kann als Warnsignal auch kaum übersehen werden. Daß unter bestimmten Umständen weit geringere Konzentrationen an 2,4-D oder p-Nitrophenol zu hier erst bei hohen Konzentrationen nachgewiesenen Wirkungen führen können, ich denke insbesondere auch hier an lichtbedingte Effekte, ist nicht unwahrscheinlich. Algenzellen unterliegen auch in völlig unberührter Natur Streßeinflüssen durch zu viel oder zu wenig Licht, vor allem bei klimatisch bedingten Veränderungen der Seeschichtung. Dieser Streß kann wahrscheinlich durch viele Xenobiotika in

seiner Wirkung verstärkt werden, d.h. die Schwellendosis wird herabgesetzt.

Die Befunde aus den Versuchen mit p-Nitrophenol haben auf einen indirekten Effekt auf die biologische O₂-Zufuhr hingewiesen: Die selektive Vernichtung bestimmter Phytoplanktonspezies. 50 ppm p-Nitrophenol führen zur völligen Auslöschung von *Rhodomonas minuta* und einer Reduzierung begeißelter Kleinalgen und Sporen kleiner als 5 µ Durchmesser um annähernd 100 %. Auch andere Spezies sind, allerdings in geringerem Maße (Tab. 15 und 16), betroffen. Die mikroskopische Auswertung fixierter Phytoplanktonproben erlaubt keine Aussage über den Grad der Zellschädigung. So lange noch keine Zersetzung eingetreten ist kann man nicht entscheiden, ob die Zelle vor der Fixierung tot oder lebendig war. So ist es durchaus denkbar, daß die selektive Wirkung von p-Nitrophenol auf die genannten Taxa durch einen artbedingten besonders schnellen Zerfall der Zellen vorgetäuscht wird und andere Taxa ebenfalls abgestorben, aber morphologisch noch nicht erkennbar geschädigt sind. Für eine selektive Zersetzung des Phytoplanktons spricht die Tatsache, daß gerade Flagellaten, Zoosporen und Gameten "nackt" sind, d.h. nur eine Pellicula besitzen, im Gegensatz zur festen Zellwand, mit mehr oder weniger Zellulose, anderer Algen (128).

V.4. Kritische Betrachtung des Testsystems

Bei der Beurteilung des Testsystems sind drei Gruppen von Kriterien zu unterscheiden:

1. Die Gewährleistung möglichst optimaler physiologischer Bedingungen für den Testorganismus innerhalb des Testsystems.
2. Die in der Einleitung aufgeführten erstrebenswerten Kriterien methodischer Art, die dazu führen sollen die 2. und 3. Kategorie der ökotoxikologischen Untersuchungsmetho-

den (8) in Einklang zu bringen und zum Ziel haben einen ökonomischen Versuchsablauf zu gewährleisten.

3. Die Erfüllung der drei in den vorausgegangenen Kapiteln ausgeführten, als Arbeitsziel gesetzten Diskussionspunkte:
 - a. Übereinstimmung der Ergebnisse mit bekannten physiologischen Daten, als Kontrolle zur Eignung des Testsystems.
 - b. Vergleichbarkeit der Laborergebnisse mit den Freilandergebnissen.
 - c. Möglichkeit aus den Ergebnissen Rückschlüsse auf Xenobiotikawirkungen auf die biotische O_2 -Regulation in Seen.

Gruppe 1:

Ein alle durchgeführten Labortests betreffendes Problem ist die pH-Zunahme bei Lichteinwirkung. Der pH-Wert in den Kontrollen verändert sich bei $150 \mu E/m^2 sec$ während der Testdauer von 48 h von durchschnittlich pH 6,6 auf durchschnittlich pH 9,3. Nach (55) wird der optimale pH-Bereich für *Ch. fusca* bei pH 8 überschritten. Die Aussagekraft der Ergebnisse wird jedoch, meiner Meinung nach, dadurch nicht entscheidend eingeschränkt. Haben die Testchemikalien keine O_2 -nettoproduktionshemmende Wirkung, so unterliegen die Zellen, ob mit oder ohne Xenobiotika, den gleichen pH-Veränderungen, sie sind einem evtl. Streßfaktor somit gleichermaßen ausgesetzt. Haben sie eine O_2 -nettoproduktionshemmende Wirkung, so steigt der pH-Wert in geringerem Maße oder sinkt sogar etwas ab, d.h. die Algen bleiben im optimalen pH-Bereich und die Wirkung der Testchemikalien wird in Anbetracht der z.T. nicht optimalen pH-Bedingungen der Kontrollen eher unterschätzt, keinesfalls überbewertet. Ein pH-Abfall bei Lichtausschluß bis zu pH 5 ist nach (55) ohne Einfluß auf die Wachstumsleistung.

Überlegenswert ist eine Verkürzung der Labortestzeit von 48 h auf 24 h. Bei Betrachtung des zeitlichen Verlaufs von O_2 -Nettoproduktion und O_2 -Bruttoproduktion unter Lichteinwirkung

(Abb. 11 und 14) scheint dies besonders sinnvoll, da bereits nach 24 h 80 % - 90 % der Maximalproduktion erreicht sind. Dies erklärt, daß mit der in 48 h durchschnittlich gemessenen Wachstumsrate in den Hell-Flaschen von $\mu = 0,0268 \text{ h}^{-1}$ nur 75 % der gemessenen Maximalwachstumsrate der log-Phase von $\mu_{\text{max}} = 0,0359 \text{ h}^{-1}$ erreicht werden. Man müßte dann jedoch mit halb so hohen O_2 -Zehrungswerten auskommen, da die O_2 -Zehrung linear mit der Testzeit ansteigt (Abb. 12 und 13). Dies würde eine entsprechende Erhöhung der Algenzelldichte erfordern, um den relativen O_2 -Bestimmungsfehler nicht zu vergrößern. Weitere Vorteile der Verkürzung der Testdauer sind in der höheren möglichen Anzahl an testbaren Xenobiotika und in der besseren Vergleichbarkeit zum 8 h-Freilandtest zu sehen. Die mit einer zeitlichen Verkürzung einhergehende Reduzierung der Einwirkzeit der Xenobiotika und notwendige Erhöhung der Algendichte sind dagegen als Negative zu betrachten.

Gruppe 2:

Die in der Einleitung geforderten methodischen Kriterien sind weitgehend erfüllt:

Die Meßmethoden des Labortests können ohne wesentliche Veränderungen im Freiland angewendet werden.

Die Versuchsbedingungen sind bezüglich Algendichten, Lichtverhältnissen und Temperatur vergleichbar. Versuche mit unterschiedlichen Lichtstärken sind im Fasanerie-See jedoch nicht möglich, da in größerer Tiefe bei schwachem Licht die O_2 -Produktionskapazität der Seepopulation trotz ähnlicher Zelldichte wie im Labor zu gering ist. Bei entsprechender Auswahl eines anderen Gewässers mit höherer Algendichte erscheinen sie jedoch realisierbar.

Eine Fünf-Tage-Woche ermöglicht im Labor 2 Testdurchgänge mit vollständig ausgewerteten Ergebnissen, bei evtl. Testzeitverkürzung erheblich mehr. Im Freiland kann täglich ein abgeschlossener Test durchgeführt werden. Die Messung der O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung ist für Kurzzeitversuche besonders ge-

eignet, da wie erwartet meist vor nachweisbaren Veränderungen der Wachstumsraten Xenobiotikawirkungen feststellbar sind; die Meßgenauigkeit ist außerdem erheblich größer als bei den anderen untersuchten Parametern. Die Laborergebnisse sind sehr gut reproduzierbar, was die in Abb. 93 zusammengefaßten prozentualen Veränderungen der O_2 -Zehrungswerte durch Atrazin belegen. Sie entstanden in einem Zeitraum von einem Jahr, in dem mehrmals neue Chemostatkulturen angesetzt wurden, was keinerlei Einfluß auf den Funktionsverlauf hatte. Im Freiland spielten für Testwiederholungen Zeitdifferenzen bis zu einer Woche und z.T. mehr keine Rolle. Die Übertragbarkeit auf ein anderes Gewässer wäre noch nachzuweisen.

Mit den in dieser Arbeit gesammelten Erfahrungen ist eine Standardisierbarkeit dieser Testmethode möglich.

Technischer Aufwand und damit verbundene Kosten sind praktisch vernachlässigbar.

Gruppe 3:

- a. Das Testsystem führte zu keinen Ergebnissen, die mit den bekannten physiologischen Wirkungsmechanismen der Testchemikalien unvereinbar wären. Es ist offensichtlich gut geeignet, auch in dieser Hinsicht unbekannte Xenobiotika zu untersuchen.
- b. Die Freilandergebnisse sind nicht immer in Übereinstimmung mit den Laborergebnissen. Die Unterschiede sind jedoch nicht unüberbrückbar. Besonders die Befunde der Atrazin- und PCP-Versuche machen deutlich, daß Laborergebnisse im Hinblick auf eine Feststellung von Toxizitäts-Schwellenwerten in natürlicher Umgebung nicht uneingeschränkt übertragbar sind. Verantwortlich für diese Unterschiede ist die Verschiedenheit der untersuchten Labor- und Freiland-"Ökosysteme" in ihrer biotischen und abiotischen Zusammensetzung. Im Fall des PCP war es möglich, die Ergebnisdifferenzen vor allem auf abiotische Unterschiede (pH-Wert) zurückzuführen. Eine detaillierte Aufklärung der Ursachen der Ergebnisdifferenzen ist keinesfalls möglich.

- c. Die aus den Ergebnissen ableitbaren Rückschlüsse auf die Auswirkungen auf die biotische O_2 -Regulation in Gewässern machen am Beispiel der lichtstärkeabhängigen Wirksamkeit von Atrazin und PCP deutlich, daß zur Beurteilung von Xenobiotikawirkungen auf komplexe Ökosysteme differenzierte Untersuchungsmethoden im Labor in Verbindung mit Freilanduntersuchungen unerlässlich sind.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

VI.1. Methodik

1. Es wird über ein neu zusammengestelltes Testsystem für Labor- und Freilanduntersuchungen berichtet, durch welches die Substanzen Atrazin, 2,4-D, PCP und p-Nitrophenol hinsichtlich ihrer Wirkung auf O_2 -Zufuhr und O_2 -Verbrauch durch das Phytoplankton, *Chlorella fusca* Sh.et.Kr. (Labor) bzw. Phytoplanktonpopulation eines eutrophen Baggersees (Freiland), im stehenden Gewässer analysiert werden. Die Wirkungen der Testsubstanzen bei $150 \mu E/m^2 \text{sec}$ im Labor und durchschnittlich $289 \mu E/m^2 \text{sec}$ im Freiland wurden anhand folgender Größen untersucht: O_2 -Produktion und O_2 -Zehrung (Hell-Dunkel-Flaschen-Methode), Wachstumsrate (Zelldichte-veränderung, aktives Chlorophyll a-Änderung, Chlorophyll-Fluoreszenz-Änderung) und pH. Für spezielle Betrachtungen wurde die Größe "Chlorophyllgehalt/Zelle" berechnet.
2. Die Wirkungen von Atrazin und PCP wurden im Labor auch auf ihre Lichtstärkeabhängigkeit überprüft (Bereich $0,2 - 890 \mu E/m^2 \text{sec}$). Gemessen wurden dabei die in Punkt 1 genannten Größen, berechnet wurden außerdem: O_2 -Bruttoproduktion/Zelle und O_2 -Bruttoproduktion/Zelle/Lichtstärke (= Aktivität).
3. *Ch. fusca* wurde in einer Algendurchflußkultur (Chemostat) in einer Dichte von ca. 10^5 Zellen/ml gezogen. In den Laborversuchen wurden künstliche Strahlungsquellen ("True-lite"-Röhren mit annäherndem Tageslichtspektrum und Halogen-Metalllampen) verwendet.
4. Die Wirkung der Testsubstanzen wird anhand der relativen Abweichung der Meßgrößen vom Kontrollwert (identische Versuchsbedingungen ohne Testsubstanzen) definiert. Konzentrationsabhängige bzw. strahlungsstärkenabhängige Reaktionen werden durch ihren Funktionsverlauf beschrieben.

5. Es wurden abiotische Einflüsse auf die O_2 -Konzentration des Laboralgenmediums nachgewiesen und entsprechende Korrekturwerte rechnerisch berücksichtigt.

VI.2. Ergebnisse

VI.2.A. Laborexperimente

1. Atrazin (Konzentrationsbereich (0,05 - 1,0 ppm):

- a) Nachweis einer Hemmung der O_2 -Nettoproduktion zwischen 0,1 - 1,0 ppm bis zu 145 %. Kein Einfluß auf die O_2 -Zehrung im Dunkeln. Die berechnete O_2 -Bruttoproduktion wird bis zu 90 % gehemmt.
- b) Nachweis einer Hemmung der Wachstumsrate (Zelldichteänderung) bei Lichteinwirkung bei 0,25 - 1,0 ppm im Mittel um 20 %.
- c) Unter Lichteinwirkung ist der Chlorophyllgehalt der Zellen bei Testende etwas erhöht (bis ca. 20 %); durch 1,0 ppm ist er um 30 -40 % reduziert (nur durch Fluoreszenzmessung nachgewiesen).
- d) Nachweis einer lichtstärkeabhängigen Wirkung (0,2 ppm). Die Aktivität wird zwischen 50 - 400 $\mu E/m^2sec$ um durchschnittlich 25 % gehemmt, unter 50 und über 400 $\mu E/m^2sec$ nimmt diese Hemmung drastisch zu: 1 $\mu E/m^2sec$ auf 83 %, 850 $\mu E/m^2sec$ auf 75 %. Der Hemm-Schwellenwert für die O_2 -Bruttoproduktion ist bei 10 $\mu E/m^2sec$ ca. 4 mal niedriger (0,024 ppm) als bei 150 $\mu E/m^2sec$ (0,09 ppm). Die Zunahme des Zellchlorophyllgehaltes in den Kontrollen bei 0,2 - 10 $\mu E/m^2sec$ wird durch Atrazin um ca. 50% (aktives Chlorophyll a) bzw. ca. 70 % (Chlorophyll-Fluoreszenz) erhöht ("Greening Effect").

Diese Befunde bestätigen, daß Atrazin spezifisch photosynthesehemmend wirkt. Das Ausmaß dieser Hemmung ist lichtstärkeabhängig.

2. 2,4-D (Konzentrationsbereich 0,1 -10 ppm):

- a) Nachweis einer Hemmung der O_2 -Zehrung im Dunkeln über 0,1 ppm, bis zu 90 % durch 10 ppm.
- b) Nachweis einer Hemmung der Wachstumsrate um ca. 63 % im Dunkeln durch 10 ppm, zwischen 0,1 - 5 ppm um durchschnittlich 6,7 %. Bei Lichteinwirkung ist die Wachstumsrate zwischen 0,1 - 5 ppm um durchschnittlich 4,8 % erhöht.

Diese Befunde sprechen für eine hemmende Wirkung auf das Wachstum im Dunkeln und eine geringe auxinähnliche Förderung des Wachstums bei Lichteinwirkung.

3. PCP (Konzentrationsbereich 0,01 - 1,0 ppm):

- a) Die O_2 -Zehrung wird im Dunkeln zwischen 0,01 und 0,1 ppm bis zu ca. 40 % gefördert; 0,5 ppm und 1,0 ppm hemmen diese um ca. 38 % bzw. ca 71 %. Die O_2 -Nettoproduktion wird erst durch 0,5 und 1,0 ppm um ca. 135 % bzw. 100 % gehemmt. Es errechnet sich eine Förderung der O_2 -Bruttoproduktion um max. 11 % durch 0,05 bis 0,1 ppm und eine Hemmung durch 0,5 und 1,0 ppm um 90 - 100 %.
- b) Die Wachstumsrate (Zellauszählung) wird bei Lichteinwirkung durch 0,5 und 1,0 ppm um 50 - 60 % gehemmt.
- c) Der Chlorophyllgehalt der Zellen (aktives Chlorophyll a) ist bei Lichteinwirkung durch 0,5 und 1,0 ppm bei Testende um 85 - 100 % niedriger als die Kontrollwerte; im Dunkeln ist der Chlorophyllgehalt durch 0,01 - 0,1 ppm bis max. 35 - 40 % (0,1 ppm) reduziert.
- d) Nachweis einer lichtstärkeabhängigen Wirkung (0,05 ppm) zwischen 1 und 10 $\mu E/m^2sec$: Unter 6 $\mu E/m^2sec$ nimmt der Zuwachs im Testzeitraum an aktivem Chlorophyll a/Zelle stark ab, bei 1 $\mu E/m^2sec$ beträgt er nur noch 40 % gegenüber 140 % bei den Kontrollen. Die Aktivität nimmt unter 10 $\mu E/m^2sec$ drastisch ab, sie ist um ca. 75 % bei 1 $\mu E/m^2sec$ gehemmt; über 10 $\mu E/m^2sec$ ist sie lichtstärkeunabhängig um durchschnittlich 17 % angehoben.

Diese Befunde unterstreichen die atmungsentkoppelnde Wirkung von PCP, die bei 0,5 und 1,0 ppm zur starken Zellschädigung bzw. zu einem Absterben der Algen führt, was unter $6 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ bereits bei 0,05 ppm beginnt.

4. p-Nitrophenol (Konzentrationsbereich 0,01 - 10 ppm):

- a) Nachweis einer Hemmung der O_2 -Nettoproduktion durch 5 ppm um ca. 3 % und ca. 30 % durch 10 ppm. Die O_2 -Zehrung wird im Dunkeln mit ansteigender Konzentration gefördert: durch 0,01 ppm um ca. 5 %, durch 10 ppm um ca. 64 %. Die berechnete O_2 -Bruttoproduktion steigt mit logarithmischer Zunahme der Konzentration zwischen 0,01 und 5 ppm um ca. 10 % an.
- b) Die Wachstumsrate (Zellauszählung) wird nur im Dunkeln und erst durch 10 ppm um ca. 25 % gehemmt.
- c) Der Zellchlorophyllgehalt (aktives Chlorophyll a) ist bei Testende gegenüber der Kontrolle bei Lichteinwirkung durch 5 ppm um ca. 15 %, durch 10 ppm um ca. 36 % reduziert, im Dunkeln um ca. 18 bzw. 46 %.

Die Ergebnisse der O_2 -Produktions- und O_2 -Zehrungsbestimmung belegen die Wirkungsweise als Atmungsentkoppler. Der negative Einfluß auf den Zellgehalt an aktivem Chlorophyll a beweist die stark schädigende Wirkung auf Algen.

VI.2.B. Freilandexperimente

1. Atrazin (Konzentrationsbereich 0,01 - 10 ppm):

- a) Nachweis der Hemmung der O_2 -Nettoproduktion: 0,01 - 0,1 ppm: um 4 - 78 %; 0,1 - 1,0 ppm: um 78 - 129 %; zwischen 0,1 und 10 ppm bleibt die Hemmung um 125 - 130 % konstant. Die O_2 -Zehrung im Dunkeln wird erst durch 10 ppm um ca. 15 % gehemmt. Der berechnete Verlauf der Hemmung der O_2 -Bruttoproduktion ist dem der O_2 -Nettoproduktion ähnlich:

0,01 - 0,1 ppm: um 4 - 64 %; 0,1 - 10 ppm: um 64 - 99 %;
zwischen 0,1 und 10 ppm bleibt die Hemmung um 97 - 99 %
konstant.

- b) Zellchlorophyllgehalt bei Lichteinwirkung: Aktives Chlorophyll a nimmt geringfügig ab (bei 0,01 ppm auf 90 %, bei 10 ppm auf 80 % der Ausgangskonzentration). Das durch Fluoreszenzmessung bestimmte Chlorophyll wird durch 0,01 ppm auf 95 % und durch 10 ppm auf 43 % reduziert.
- c) Kein wesentlicher Einfluß auf die Gesamtzelldichte und Artenzusammensetzung.

Auch im Freilandversuch bestätigt sich die spezifische Wirkung von Atrazin auf die Photosynthese.

2. 2,4-D (Konzentrationsbereich 1,0 - 50 ppm):

- a) Die O₂-Nettoproduktion nimmt von 1,0 - 50 ppm um max. 15 % zu. Die O₂-Zehrung wird im Dunkeln über 10 ppm, bis um max. 11 % bei 50 ppm, gehemmt. Laut Berechnung nimmt die O₂-Bruttoproduktion zwischen 1,0 und 50 ppm um 2 - 8 % zu.
- b) Der Chlorophyllgehalt wird bei Lichteinwirkung nicht nachweisbar beeinflusst.
- c) Gesamtzelldichte und Artenzusammensetzung werden bei Lichteinwirkung nicht nachweisbar beeinflusst.

Auch im Freilandversuch zeigt sich eine jedoch nur geringe Hemmung im Dunkeln und fördernde Wirkung im Licht.

3. PCP (Konzentrationsbereich 0,05 - 1,0 ppm):

- a) Die O₂-Nettoproduktion wird mit zunehmender Konzentration gehemmt (bis zu 66 % durch 1,0 ppm). Die O₂-Zehrung nimmt im Dunkeln um max. 20 %, bei 1,0 ppm, zu. Die berechnete O₂-Bruttoproduktion verhält sich ähnlich wie die O₂-Nettoproduktion (Hemmung bis zu 46 %, bei 1,0 ppm).
- b) und c) siehe 2. 2,4-D.

Dieser Befund weist auf die atmungsentkoppelnde Wirkung des PCP hin, die im Freiland offensichtlich zu so starken Schädigungen führt, daß die O₂-Produktion stark beeinträchtigt wird.

4. p-Nitrophenol (Konzentrationsbereich 1,0 - 50 ppm):

- a) Bei 50 ppm ist eine Hemmung der O₂-Nettoproduktion um 115 - 120 % nachgewiesen. Die O₂-Zehrung im Dunkeln wird durch 10 ppm um ca. 7 %, durch 50 ppm um 50 - 60 % gehemmt. Die berechnete O₂-Bruttoproduktion wird durch 50 ppm um ca. 100 % gehemmt.
- b) Die Konzentration an aktivem Chlorophyll a nimmt bei Lichteinwirkung linear zur Konzentrationszunahme auf ca. 55 % vom Ausgangswert durch 50 ppm ab, was in direktem Zusammenhang mit einem Absterben der Algenzellen steht.
- c) Durch 50 ppm ist die Gesamtzellzahl unter Lichteinwirkung bei Testende um 64 bzw. 77 % geringer als in den Kontrollen, was auf die völlige Auslöschung von *Rhodomonas minuta* und das um 95 - 98 % geringere Vorhandensein der ein- und zweigeißeligen Algen und Sporen kleiner 5 µm bei Testende gegenüber den Kontrollen zurückzuführen ist.

p-Nitrophenol zeigt im Freilandexperiment erst bei hoher Konzentration (50 ppm) eine Wirkung, die dann jedoch zum Absterben einzelner Algentaxa führt.

VI.2.C. Bedeutung der Ergebnisse für den O₂-Haushalt eines Sees

1. Atrazin:

1,0 ppm Atrazin bringt die O₂-Produktion zum völligen Erliegen, was bei unbeeinflusster O₂-Zehrung zu erheblichen O₂-Verlusten führen muß. Die Freilandpopulation ist dabei empfindlicher als *Ch. fusca*. Die starke Lichtabhängigkeit der Atrazinwirkung bedeutet eine zusätzlich gesteigerte O₂-Verarmung in lichtschwachen Seetiefen. Aus den Labordaten errechnen sich

Freilandschwellenwerte bei 200 - 400 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ von 8,5 ppb und bei 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ von 2,3 ppb.

2. PCP:

Die Hemmung der biologischen O_2 -Zufuhr ab 0,05 ppm PCP bei 200 - 400 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{sec}$ im See wird im Bereich schwachen Lichts verstärkt, d.h. die biologische O_2 -Zufuhr wird in tieferen Seeschichten besonders betroffen. Schon etwas mehr als 0,01 ppm PCP reichen bei *Ch. fusca* aus, um die O_2 -Zehrung zu erhöhen, was einen O_2 -Entzug im See zu Folge hätte.

3. 2,4-D:

2,4-D wirkt sich erst in Konzentrationen von 10 - 50 ppm auf die O_2 -Nettoproduktion aus. Bei derzeitig vorstellbaren Freilandkonzentrationen sind direkte Effekte nicht zu erwarten.

4. p-Nitrophenol:

Auch p-Nitrophenol muß in Konzentrationen von über 5 ppm vorhanden sein, um sich direkt auf das O_2 -Gleichgewicht auszuwirken. 50 ppm können zur selektiven Vernichtung bestimmter Algenspezies führen.

VII. TABELLENANHANG

Tabelle 1: Zusammensetzung der Nährlösung für *Chlorella fusca* Sh. et Kr.

KH_2PO_4	$5 \times 10^{-7} \text{ M}$	= 31 $\mu\text{g P/l}$ (statt 31 mg/l (43))
K_2HPO_4	$5 \times 10^{-7} \text{ M}$	
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$	$3 \times 10^{-4} \text{ M}$	= 13,3 mg N/l (statt 77 mg/l (43))
KNO_3	$1 \times 10^{-4} \text{ M}$	
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$	$1,25 \times 10^{-4} \text{ M}$	
Na_2SO_4	$3 \times 10^{-4} \text{ M}$	= 29 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{l}$ (statt 192 mg/l (43))

Fe - Komplex: 8,9 g $\text{FeCl}_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$ + 16,7 g Titriplex III
 $\times 2 \text{ H}_2\text{O}$ in 500 ml H_2O (über Nacht Luft durchblasen),
 davon 0,2 ml pro 1 Nährlösung.

1 ml Spurenelementlösung pro 1 Nährlösung, zusammengesetzt aus:

1,43 g/l H_3BO_3
 10 mg/l $\text{H}_2\text{MoO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$
 1,8 g/l $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$
 50 mg/l ZnCl_2
 38 mg/l $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \times 3 \text{ H}_2\text{O}$

Tabelle 2: Morphometrische und hydrologische Daten des Fasanerie-Sees (74)

Wasserspiegelhöhe	494,15 m ü.NN.
Entstehungszeit	1939 - 1942
Seeareal	14,7 ha
Volumen	$83,7 \times 10^4 \text{ m}^3$
Max. Länge	643 m
Max. Breite	268 m
Max. Tiefe	8,5 m
Mittl. Tiefe	5,7 m
Relative Tiefe	1,96 ‰
Uferlinie	1675 m
Uferentwicklung	1,24
Durchfluß	40 l/sec
Wassererneuerungszeit	ca. 247 Tage

Tabelle 3: Zeitlicher Verlauf der O₂-Nettoproduktion in den Hell-Flaschen

Stunden	mg O ₂ /l nach Stunden:											
	4	8	16,5	17	23,5	24	29,5	31	41,5	43,5	46	48
Versuch I	1,54	1,99	---	3,24	---	3,60	---	3,61	3,78	3,71	3,76	3,76
Versuch II	---	---	3,13	---	3,64	---	4,14	---	4,26	---	---	4,40

Tabelle 4: Zeitlicher Verlauf der O₂-Zehrung in den Dunkel-Flaschen

Stunden	mg O ₂ /l nach Stunden:														
	4	8	8,5	17	17,3	21,5	21,7	26,3	31,5	41	41,3	43,3	45,5	45,7	48
Versuch I	0,28	----	0,49	----	0,74	----	0,92	1,16	1,31	1,50	----	1,72	----	1,80	1,83
Versuch II	0,25	0,53	----	0,75	----	0,88	----	1,19	1,58	----	1,89	1,97	2,06	----	2,22

Tabelle 5: Errechneter zeitlicher Verlauf der O₂-Zehrung aus den Ergebnissen 4-stündiger Verdunkelungsperioden in den Hell-Flaschen

Stunden	mg O ₂ /l nach Stunden:					
	4	20,5	26,5	32,5	44,5	48
	0,21	1,02	1,24	1,63	1,99	2,21

Tabelle 6: Zuordnung der Taxa zu den in
Tab. 7 - 19 angegebenen Nummern

- 1 Botrychloris sp.
- 2 Chlorococcum sp.
- 3 Oocystis sp.
- 4 Dactylococcopsis sp.
- 5 Dactylococcopsis raphidioides
- 6 Ankistrodesmus sp.
- 7 Scenedesmus sp. (I)
- 8 Asterionella formosa
- 9 Ulothrix sp.
- 10 Coenocystis sp.
- 11 Rhodomonas minuta
- 12 Cryptomonas sp.
- 13 Pediatrum duplex
- 14 Staurastrum sp.
- 15 Crucigenia quadrata
- 16 Cyclotella sp. (I)
- 17 Tetraedron minimum
- 18 Cyclotella sp. (II)
- 19 Pediatrum boryanum
- 20 Microcystis sp.
- 21 Kirchneriella sp.
- 22 Lagerheimia sp.
- 23 Ceratium hirudinella
- 24 Scenedesmus sp. (II)
- 25 Closterium sp.
- 26 Cosmarium sp.
- 27 Begleitete Kugelalgen und Sporen kleiner als 5 μ m $\emptyset$
- 28 Unbestimmte Algen

Tabellen 7 - 19:

0 = Algenzellichte bei Testbeginn (Zellen/ml)
tr = Algenzellichte bei Testende in den Hell-Flaschen ohne
Testchemikalie (Kontrollen) (Zellen/ml)
ts = Algenzellichte bei Testende in den Hell-Flaschen mit
Testchemikalie (Zellen/ml)

Taxon-Nr. s. Tab. 6

Tabelle 7: Freilandtest mit 10 ppm Atrazin

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	235	--	878	31	214	--	286	--	--	--
tr	368	--	1052	102	235	41	296	--	--	--
ts	664	--	1164	10	245	20	694	--	--	--
Taxon 11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
0	2011	153	--	--	184	133	41	61	276	1654
tr	1164	37	--	--	235	51	82	153	--	970
ts	408	82	--	--	317	276	41	41	163	2665
Taxon 21	22	23	24	25	26	27	28	Summe		
0	1031	191	--	--	--	--	--	1103	8434	
tr	1419	245	--	--	--	--	--	1256	7698	
ts	939	245	--	--	--	--	--	939	8913	

Tabelle 8: Freilandtest mit 1,0 ppm Atrazin

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	339	--	1225	82	216	53	584	--	--	--
tR	421	--	1213	53	135	41	707	--	--	--
tS	216	--	1009	--	257	41	421	--	--	--
Taxon 11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
0	858	53	--	12	502	69	135	--	204	3239
tR	163	12	--	--	519	245	82	--	--	2655
tS	69	12	12	12	1225	135	69	--	233	1932
Taxon 21	22	23	24	25	26	27	28	Summe		
0	1115	314	--	--	12	--	858	339	10222	
tR	1050	355	--	--	--	--	543	421	8617	
tS	396	584	12	--	--	--	176	257	7078	

Tabelle 9: Freilandtest mit 0,5 ppm Atrazin (I)

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	584	--	1144	12	135	29	1376	82	--	--
tR	653	--	939	12	135	53	600	--	--	--
tS	151	--	1172	94	53	12	1172	--	--	--
Taxon 11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
0	216	69	--	29	805	192	151	--	--	3402
tR	29	--	--	--	355	94	123	--	274	2953
tS	12	--	--	29	870	216	69	--	53	2054
Taxon 21	22	23	24	25	26	27	28	Summe		
0	788	380	12	--	12	--	163	339	9924	
tR	572	339	--	--	--	--	41	298	7474	
tS	408	298	--	--	--	--	163	274	7106	

Tabelle 10: Freilandtest mit 0,5 ppm Atrazin (II)

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	735	--	1826	53	123	29	1225	--	--	--
tR	380	--	2969	53	233	--	898	--	--	--
tS	461	--	2830	53	53	53	1634	--	--	--
Taxon 11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
0	110	53	--	--	2287	53	82	--	--	5665
tR	69	--	--	--	1728	176	82	--	--	6085
tS	53	--	--	--	1483	94	12	--	216	5705
Taxon 21	22	23	24	25	26	27	28	Summe		
0	747	682	12	53	--	--	163	380	14282	
tR	694	682	--	--	--	--	192	600	14837	
tS	449	531	12	53	--	--	82	641	14429	

Tabelle 11: Freilandtest mit 50 ppm 2,4-D (I)

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	2736	--	421	123	339	94	2071	--	--	--
tR	2981	--	707	192	257	41	1646	--	53	--
tS	2275	--	1009	123	257	53	1360	--	--	--
Taxon 11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
0	2912	110	--	--	543	1401	41	--	--	1879
tR	1687	29	--	12	396	2328	82	--	--	1728
tS	1907	69	12	--	298	1838	69	--	--	1278
Taxon 21	22	23	24	25	26	27	28	Summe		
0	314	204	53	69	12	--	9544	123	22993	
tR	461	176	29	--	29	29	7666	437	20951	
tS	380	478	29	12	12	12	7649	858	19983	

Tabelle 12: Freilandtest mit 50 ppm 2,4-D (II)

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	3431	--	694	41	135	94	1090	--	--	--
tr	1458	--	735	69	368	216	1172	--	--	--
ts	1703	--	560	110	449	176	2013	--	--	--
Taxon	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0	2724	94	--	--	274	2013	123	--	41	1907
tr	1674	41	--	--	368	2136	82	--	--	1103
ts	2095	82	--	--	327	2083	94	--	--	2614
Taxon	21	22	23	24	25	26	27	28	Summe	
0	355	135	12	--	--	12	8658	735	22573	
tr	572	285	--	69	29	12	9953	502	20882	
ts	380	257	--	--	12	41	10157	151	23308	

Tabelle 13: Freilandtest mit 1,0 ppm PCP (I)

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	1920	20	1144	51	204	31	225	31	143	133
tr	1317	--	1021	296	--	10	214	61	--	133
ts	2287	--	789	109	--	--	274	--	27	54
Taxon	11	12	28	Summe		13 bis 27 nicht aufgetreten				
0	20	--	194	4115						
tr	705	92	429	4278						
ts	477	54	232	4302						

Tabelle 14: Freilandtest mit 1,0 ppm PCP (II)

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	6194	--	4138	313	6412	490	789	41	109	27
tR	6425	--	5813	191	6276	789	708	--	--	--
tS	6439	--	4370	381	6562	694	912	--	--	--

Taxon	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0	1320	640	--	--	368	531	109	272	245	1075
tR	477	82	--	--	640	871	95	191	41	912
tS	613	204	--	--	789	694	218	150	477	477

Taxon 28 Summe 21 bis 27 nicht aufgetreten

0	2029	25104
tR	2260	25770
tS	2913	25675

Tabelle 15: Freilandtest mit 1,0 ppm PCP (III)

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	8345	--	3036	95	4847	368	885	--	--	218
tR	6249	--	2399	133	5759	521	833	--	--	51
tS	6548	--	3308	313	4247	286	844	--	--	381

Taxon	11	12	13	14	15	16	17	18	19
0	898	150	--	--	1375	681	286	191	340
tR	647	10	--	--	1041	653	102	225	61
tS	690	41	--	--	1012	613	123	218	--

Taxon 28 Summe 20 bis 27 nicht aufgetreten

0	1974	23688
tR	2879	21564
tS	2301	20924

Tabelle 16: Freilandtest mit 50 ppm p-Nitrophenol (I)

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	1783	--	545	14	204	--	694	--	--	--
tR	259	--	585	27	41	41	762	--	--	--
tS	1933	--	272	27	177	--	735	--	--	--
Taxon	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0	2342	54	--	--	95	408	--	--	14	504
tR	2655	--	--	--	41	613	54	--	--	1171
tS	--	--	--	--	27	722	41	--	--	204
Taxon	21	22	23	24	25	26	27	28	Summe	
0	463	204	--	41	14	14	5173	14	12579	
tR	422	436	--	--	14	14	5173	204	14471	
tS	272	368	--	54	--	--	327	82	5241	

Tabelle 17: Freilandtest mit 50 ppm p-Nitrophenol (II)

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	313	--	599	27	163	14	572	--	--	--
tR	2505	--	449	--	368	--	613	--	--	--
tS	1225	--	368	--	136	--	408	--	--	--
Taxon	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0	776	109	--	--	54	368	27	--	--	517
tR	1674	41	--	--	381	558	41	--	--	--
tS	--	27	--	--	272	558	109	--	54	--
Taxon	21	22	23	24	25	26	27	28	Summe	
0	268	218	--	--	--	27	3022	68	7161	
tR	340	299	--	--	14	41	5432	150	12906	
tS	95	218	--	--	27	--	136	68	3703	

Tabelle 18: Freilandtest mit 10 ppm p-Nitrophenol (I) **Tabelle 19:** Freilandtest mit 10 ppm p-Nitrophenol (II)

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	6044	--	1009	41	5350	53	1511	--	--	--
tR	6318	--	1144	69	5746	216	1581	--	--	--
tS	6943	--	1131	12	4970	102	1552	--	--	--
Taxon	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0	1973	135	--	12	1593	478	110	--	82	817
tR	2532	41	--	--	1785	641	274	--	204	1621
tS	1920	69	--	12	1838	531	286	--	--	858
Taxon	21	22	23	24	25	26	27	28	Summe	
0	123	69	--	--	12	29	3145	1417	24002	
tR	298	29	--	--	--	--	2953	1197	26640	
tS	110	12	12	53	12	12	2136	952	23496	

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	5187	68	585	95	3921	14	1157	--	--	--
tR	4874	14	858	82	5010	54	1171	--	--	--
tS	5337	--	626	41	5391	27	1103	--	--	--
Taxon	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0	5105	245	--	--	2369	572	150	--	--	1538
tR	7733	68	--	--	2519	667	218	--	--	1593
tS	5963	476	--	27	2927	830	123	--	68	1062
Taxon	21	22	23	24	25	26	27	28	Summe	
0	259	109	--	109	--	14	6017	1470	28985	
tR	245	--	--	95	14	--	7338	1334	33816	
tS	340	54	--	54	--	--	5064	1797	31298	

VIII. LITERATUR

- (1) GROTHE, A.: Der Sauerstoffhaushalt der Seen. In: Dr. A. Thienemann, Die Binnengewässer, 14, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung Stuttgart (1934).
- (2) KORTE, F. et al.: Ökologische Chemie. Georg Thieme Verlag Stuttgart (1980).
- (3) BESCH, W.K.: Kritische Bewertung der Rolle von toxikologischen Tests bei der Gewässerüberwachung. Dechena-Beihefte (Bonn) 26, 67-77 (1982).
- (4) GRESSHOFF, P.M. et al.: Fate of polychlorinated biphenyl (Aroclor 1242) in an experimental study and its significance to the natural environment. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 17 (6), 686-691 (1977).
- (5) HAWES, M.L. et al.: The effects of various Aroclor fractions on the population growth of *Chlorella pyrenoidosa*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 15 (1), 14-18 (1976).
- (6) SIMMONS, M.S., and SIVABORVORN, K.: Effects of the chlorinated organics from wastewater treatment on algal growth. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 23, 766-773 (1979).
- (7) PAYNE, A.G., and HALL, R.H.: Application of algal assays in the environmental evaluation of new detergent materials. Mitt. Internat. Verein. Limnol. 21, 507-520 (1978).
- (8) MOSSER, J.L. et al.: Polychlorinated biphenyls: Toxicity to certain phytoplankters. Sci. 175, 191-192 (1972).
- (9) DUNSTAN, W.M. et al.: Stimulation and inhibition of phytoplankton growth by low molecular weight hydrocarbons. Marine Biol. 31, 305-310 (1975).
- (10) GLOOSCHENKO, V., and GLOOSCHENKO, W.: Effect of polychlorinated biphenyl compounds on growth of Great Lakes phytoplankton. Can. J. Bot. 53, 653-659 (1975).
- (11) SHEHATA, S.A., and NAWAR, S.S.: Toxicity effect of Anti-Germ₅₀ to algae and fish. Z. f. Wasser- u. Abwasser-Forsch., 12. Jahrg. 5, 226-229 (1979).
- (12) HANNAN, P.J., and PATOUILLET, C.: An algal toxicity test and evaluation of adsorption effect. Journal WPCF 51 (4), 834-840 (1979).
- (13) BATTERTON, J.C. et al.: Growth response of blue-green algae to Aldrin, Dieldrin, Endrin and their metabolites. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 6 (6), 589-594 (1971).
- (14) KRICHER, J.C. et al.: The effects of Mirex and Methoxychlor on the growth and productivity of *Chlorella pyrenoidosa*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 14 (5), 617-620 (1975).
- (15) BRINGMANN, G.: Bestimmung der biologischen Schädwirkung wassergefährdender Stoffe aus der Hemmung der Zellvermehrung der Blaualge *Microcystis*. Gesundheits-Ingenieur 96 (9), 238-241 (1975).

- (16) BRYAN, A.M., and OLAFSSON, R.G.: The effect of polychlorobiphenyls (Aroclor 1242) on bicarbonate-C¹⁴ uptake by *Euglena gracilis*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 19 (3), 374-381 (1978).
- (17) WODZINSKI, R.S., and ALEXANDER, M.: Effect of sulfurdioxide on algae. J. Environ. Qual. 7 (3), 358-360 (1978).
- (18) WURSTER, C.F. Jr.: DDT reduces photosynthesis by marine phytoplankton. Sci. 159, 1474-1475 (1968).
- (19) BIGGS, D.C. et al.: A comparison of the effects of chlordane and PCB on the growth, photosynthesis, and cell size of estuarine phytoplankton. Environ. Pollut. 15, 253-263 (1978).
- (20) GEOGHEGAN, M.T.: The effect of some substituted methylureas on the respiration of *Chlorella vulgaris* var. *viridis*. The New Phytol 56 (1), 71-80 (1957).
- (21) GEIKE, F., and PARASHER, C.D.: Effect of hexachlorobenzene (HCB) on photosynthetic oxygen evolution and respiration of *Chlorella pyrenoidosa*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 20, 647-651 (1978).
- (22) LEE, S.S. et al.: Effect of DDT on photosynthesis of *Selenastrum capricornutum*. Pestic. Biochem. Physiol. 6, 46-51 (1976).
- (23) WEBER, A.V.: An uncomplicated screening test to evaluate toxicity of environmentally hazardous compounds in water. Environ. Technol. Letters 2, 323-328 (1981).
- (24) MOSSER, J.L. et al.: Polychlorinated biphenyls and DDT alter species composition in mixed culture of algae. Sci. 176, 533-535 (1972).
- (25) TAUB, F.B.: Demonstration of pollution effects in aquatic microcosms. Intern. J. Environ. Studies 10, 23-33 (1976).
- (26) RIBEYRE, F. et al.: Interest of the experimental trophic chains as ecotoxicological models for the study of the ecosystem contaminations. Ecotox. Environ. Safety 3, 411-427 (1979).
- (27) ISENSEE, A.R. et al.: Toxicity and fate of nine toxaphene fractions in an aquatic model ecosystem. J. Agric. Food Chem. 27 (5), 1041-1046 (1979).
- (28) PO-YUNG LU, and METCALF, R.L.: Environmental fate and biodegradability of benzene derivatives as studied in a model aquatic ecosystem. Environ. Health Perspect. 10, 269-284 (1975).
- (29) METCALF, R.L.: Laboratory model ecosystem evaluation of the chemical and biological behaviour of radio-labelled micropollutants. Environ. Quality Safety 5, 141-151 (1976).
- (30) SCHAUERTE, W. et al.: Influence of 2,4,6-trichlorophenol and pentachlorophenol on the biota of aquatic systems. Chemosphere 11 (1), 71-79 (1982).

- (31) UHLMANN, D.: Hydrobiologie. VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 2. Aufl., 149 (1982).
- (32) VOLLENWEIDER, R.A.: A manual on methods for measuring primary production in aquatic environments. IBP Handbook No. 12, Blackwell scientific publications Oxford and Edinburgh, 69 (1969).
- (33) MÜLLER, H.: Wachstum und Phosphathaushalt von *Nitzschia actinastroides* (Lemn.) v. Goor in statischer und homokontinuierlicher Kultur unter Phosphatelimination. Arch. Hydrobiol. 38 (4), 399-484 (1972).
- (34) RICICA, J.: Theoretical and methodological basis of continuous culture of microorganisms. Ed. by J. Malek and Z. Fencel, Acad. Press New York & London (1966).
- (35) FENCĚL, Z.: A uniform system of basic symbols for continuous cultivation of microorganisms. Pol. Microbiol. 8, 192-194 (1963).
- (36) TALLING, J.F.: The relative growth rates of three plankton diatoms in relation to underwater radiation and temperature. Ann. of Botany 19, 329-341 (1955).
- (37) TALLING, J.F.: Photosynthetic characteristics of some freshwater plankton diatoms in relation to underwater radiation. The New Phytol. 56 (1), 29-50 (1957).
- (38) TALLING, J.F.: The phytoplankton population as a compound photosynthetic system. The New Phytol. 56 (1), 133-149 (1957).
- (39) ICHIMURA, S.: Photosynthesis pattern of natural phytoplankton relating to light intensity. Bot. Mag. Tokyo 73, 458-467 (1960).
- (40) GLIWICZ, Z.M.: Plankton photosynthetic activity and its regulation in two neotropical man-made lakes. Pol. Arch. Hydrobiol. 23 (1), 61-93 (1976).
- (41) HARRIS, G.P.: Photosynthesis, produktivity and growth: The physiological ecology of phytoplankton. Arch. Hydrobiol. Beih., Ergebn. Limnol. 10 (1-4), 1-171 (1978).
- (42) MOHR, H. und SCHOPFER, P.: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. 3. Aufl. Springer Verl., Berlin, Heidelberg, New York (1978).
- (43) SCHIFF, J.A., and LEVINTHAL, M.: Studies of sulfate utilization by algae. 4. Properties of a cell-free sulfate-reducing system from *Chlorella*. Plant Physiol. 43, 547-554 (1968).
- (44) PEICHL, L.: Untersuchungen über die Abhängigkeit der Sauerstoffproduktion vom Strahlungsangebot, von der Phytoplanktonbiomasse und dem Nährstoffgehalt ($\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$) in einem eutrophen Baggersee. Diplom-Arbeit am Zool. Inst. der Universität München, unpubl. (1979).
- (45) WILDERMANN, K.: "True-lite" Produktinformation; Copyright 1978 by Otto Greller KG; printed in Germany, J. Bauschen KG, Köln.

- (46) Licht für Innen und Außen. Osram GmbH Berlin-München, Ausg. April 1982/866/5.
- (47) HEATH, O.V.S.: Physiologie der Photosynthese. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 107 ff. (1972).
- (48) BIGGS, W.W. et al.: Photosynthesis light sensors and meter. Ecology 52, 125-131 (1971).
- (49) Manual des Quanten Photometers LI 185 A der Fa. LI-COR (vertreten durch Fa. Bachofer GmbH, 7410 Reutlingen, BRD).
- (50) SHIBLES, R.: Terminology pertaining to photosynthesis. Crop Science 16, 437-439 (1976).
- (51) WIBERG, E.: Lehrbuch der anorganischen Chemie, Hollemann-Wiberg. Walter de Gruyter & Co. Verlag, Berlin, 71.-80. Aufl., 229 (1971).
- (52) MC CREE, K.J.: Test of current definitions of photosynthetically active radiation against leaf photosynthesis data. Agric. Meteorol. 10, 443-453 (1972).
- (53) SOEDER, C.J.: Zum Phosphathaushalt von Chlorella fusca Sh. et Kr. Arch. Hydrobiol./Suppl. 38, 1-17 (1970).
- (54) SOEDER, C.J.: Zur Kinetik der Substanzproduktion in Synchronkulturen von Chlorella fusca Shihira et Krauss. Arch. Hydrobiol./Suppl. 33, 92-100 (1967).
- (55) SOEDER, C.J. et al.: Einfluß verschiedener Kulturbedingungen auf das Wachstum in Synchronkulturen von Chlorella fusca Sh. et Kr. Arch. Hydrobiol./Suppl. 33 (2), 127-171 (1967).
- (56) GRÜNBERG, H.: Über das Zeta-Potential zweier synchron kultivierter Chlorella-Stämme. Arch. Hydrobiol./Suppl. 33 (3/4), 331-362 (1968).
- (57) TAMIYA, H. et al.: Correlation between photosynthesis and light-independent metabolism in the growth of Chlorella. Biochim. et Biophys. Acta 12 (1/2), 23-40 (1953).
- (58) HANSEN, M.C., und BIGGS, W.W.: Informationen der Fa. LI-COR, inc./Ltd. über Licht-Umrechnungsfaktoren. Fa. Bachofer, 7410 Reutlingen, BRD (1979).
- (59) WINKLER, L.W.: Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes. Ber. der dtsh. Chem. Ges., 21. Jahrg. Juli-Dezember, 2843-2854 (1888).
- (60) WINKLER, L.W.: Die Löslichkeit des Sauerstoffes im Wasser. Ber. der dtsh. Chem. Ges., 22. Jahrg. Juli-Dezember, 1764-1774 (1889).
- (61) CARPENTER, H.J.: The accuracy of the Winkler method for dissolved oxygen analysis. Limnol. Oceanog. 10, 135-143 (1965).
- (62) REIMANN, K.: Sauerstoffproduktion des Phytoplanktons in Abhängigkeit von der Temperatur des Wassers. Z. f. Wasser- u. Abwasser-Forsch., 11. Jahrg. 5, 151-154 (1978).

- (63) BROWN, A.H.: The effects of light on respiration using isotopically enriched oxygen. *Am. J. of Botany* 40, 719-729 (1953).
- (64) WARBURG, D. et al.: Does light inhibit the respiration of green cells? *Arch. Biochem.* 23, 330-333 (1949).
- (65) KANDLER, O.: Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese I. *Z. Naturforsch.* 5b, 423-437 (1950).
- (66) PEICHL, L.: Die Rolle des Phytoplanktons als Sauerstoffproduzent in einem eutrophen Baggersee. In: Baggerseen und Naturschutz, Tagungsbericht 6/80 der Akad. für Naturschutz und Landschaftspflege, Laufen/Salzach, 190-204 (1980).
- (67) UTERMÖHL, H.: Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Int. Vereinig. f. theor. u. angew. Limnol.* 9, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart (1958).
- (68) Determination of photosynthetic pigments in seawater. Monographs on oceanographic methodology, UNESCO, Paris 1, SCOR/UNESCO Working Group 17, 9-18 (1966).
- (69) STRICKLAND, J.D.H., and PARSONS, T.R.: A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Canada* 167, 311 pp. (1968).
- (70) RICHARDS, F., and THOMPSON, T.G.: The estimation and characterization of plankton population by pigment analysis. *J. Marine Res.* 11, 156-172 (1952).
- (71) RAUSCH, T.: Biomasseparameter und deren Bestimmung/Großpraktikum 1979, *Limnol. Inst.*, 7750 Konstanz, unpubl. (1979).
- (72) GOOD, N.E.: Inhibitors of the Hill reaction. *Plant. Phys.* 36, 788-803 (1961).
- (73) SCHULZE, E.: Konstruktion und Erprobung eines für in vivo Messungen von Chlorophyll geeigneten Impulsfluorometers. Diplom-Arbeit, *Inst. f. Biophysik d. Universität Hannover*, unpubl. (1978).
- (74) SIEBECK, O.: Der Wasseraustausch durch Grundwasserdurchfluß im Baggersee und seine Bedeutung für die Eutrophierung. In: Baggerseen und Naturschutz, Tagungsbericht 6/80 der Akad. für Naturschutz und Landschaftspflege, Laufen/Salzach, 163-189 (1980).
- (75) FASCHER, K.D.: Die Primärproduktion in Abhängigkeit verschiedener Größenklassen des Phytoplanktons in einem eutrophen Baggersee. Diplom-Arbeit am Zool. Institut der Universität München, unpubl. (1983).
- (76) VOLLENWEIDER, R.A.: Sichttiefe und Produktion. *Verh. internat. Verh. Limnol.* 13, 142-143 (1958).
- (77) RODHE, W.: Primärproduktion und Seetypen. *Verh. internat. Verh. Limnol.* 13, 121-141 (1958).
- (78) SCHWOERBEL, J.: Methoden der Hydrobiologie - Süßwasserbiologie. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart/New York, 2. Aufl., 12 (1980).

- (79) GÄCHTER, R.: Die Bestimmung der Tagesraten der planktischen Primärproduktion - Modelle und In-situ-Messungen. Schweiz. Zeitschr. f. Hydrologie 34 (2), 211-244 (1972).
- (80) THIENEMANN, A.: Bestimmungsbücher aus der Reihe: Die Binnengewässer. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- (81) STREBLE, H. und KRAUTER, D.: Das Leben im Wassertropfen. Kosmos, Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 2. Aufl. (1974).
- (82) JACOBS, J.: Statistik-Kochbuch für Ökologiekurs. Zool. Großpraktikum der Universität München, unpubl. (1976).
- (83) WEBER, E.: Grundlagen der biologischen Statistik. VEB Gustav Fischer Verl. Jena, 626-627 (1972).
- (84) SCHEELE, B.: Reference chemicals as aids in evaluating a research programme - selection aims and criteria. Chemosphere 9, 293-309 (1980).
- (85) BÜGNER, P.: Herbizide im modernen Pflanzenbau. Naturw. Rundschau, 30. Jahrg. 9, 322-331 (1977).
- (86) BRIAN, R.C.: The history and classification of herbicides. In: Herbicides, Acad. Press, 2nd Edition, ed. by L.J. Andus, 1, 1-54 (1976).
- (87) RICHTER, G.: Stoffwechselphysiologie der Pflanzen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2. Aufl. (1971).
- (88) MORELAND, D.E., and HILTON, J.L.: Action on photosynthetic systems. In: Herbicides, Acad. Press, 2nd Edition, ed. by L.J. Andus, 1, 493-524 (1976).
- (89) SEIKICHI, I., and GOOD, N.: The number of sites sensitive to 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea, 3-(4-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea and 2-chloro-4-(2-propylamino)-6-ethylamino-s-triazine in isolated chloroplasts. Biochim. Biophys. Acta 102, 20-38 (1965).
- (90) STROTMANN, H. et al.: Spezifische Bindung von Inhibitoren durch Elektronenüberträger der photosynthetischen Elektronentransportkette. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 87, 457-463 (1974).
- (91) PFISTER, K., and ARNTZEN, J.CH.: The mode of action of photosystem II - specific inhibitors in herbicide-resistant weed biotypes. Z. Naturforsch. 34 c, 996-1009 (1979).
- (92) STEINBACK, K.F. et al.: Trypsin-mediated removal of herbicide binding sites within the photosystem II complex. Z. Naturforsch. 36 c, 98-108 (1981).
- (93) ASHTON, F.M. et al.: Structural changes in Phaseolus vulgaris induced by atrazine. I. Histological changes. Bot. Gaz. 124 (1), 329-335 (1963).
- (94) ASHTON, F.M. et al.: Structural changes in Phaseolus vulgaris induced by atrazine. II. Effects on fine structure of chloroplasts. Bot. Gaz. 124 (1), 336-343 (1963).

- (95) ASHTON, F.M. et al.: Physiological, biochemical, and structural modifications of plants induced by atrazine and monuron. Proc. Southern Weed Conf. 18, 596-602 (1965).
- (96) ASHTON, F.M., and URIBE, G.E.: Effect of atrazine on sucrose-C¹⁴ and serine-¹⁴C metabolism. Weeds 10 (1), 295-297 (1962).
- (97) ASHTON, F.M. et al.: Effect of atrazine on *Chlorella vulgaris*. Amer. J. Bot. 53 (3), 217-219 (1966).
- (98) VEBER, K. et al.: Toxic effect and accumulation of atrazine in algae. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 27, 872-876 (1981).
- (99) ZWEIG, G. et al.: The effect of photosynthesis inhibitors on oxygen evolution and fluorescence of illuminated *Chlorella*. Biochim. Biophys. Acta 66, 196-205 (1963).
- (100) BUTLER, G.L.: Algae and pesticides. In: Residue Reviews, ed. by Gunther, F.A., Springer Verl. New York-Heidelberg-Berlin, 66, 19-62 (1977).
- (101) LADONIN, V.F., and SPESIVTSEV, L.G.: Effect of triazine herbicides on plants in connection with the intracellular localization of their molecules. In: Pesticides, Environmental Quality and Safety, Suppl. ed. by Coulston, F.C. and Korte, F., Georg Thieme Verl. Stuttgart, 3, 517-521 (1975).
- (102) NADAR, M.H. et al.: Promotion of Sorghum callus growth by the s-triazine herbicides. Plant Physiol. 56, 747-751 (1975).
- (103) GRAPPELLI, A., and ROSSI, W.: Effect on herbicides on growth, respiration and IAA biosynthesis in *Arthrobacter* sp. Chemosphere 6, 377-382 (1979).
- (104) RUP LAL, and SAXENA, D.M.: Cytological and biochemical effects of pesticides on microorganisms. In: Residues Reviews, ed. by Gunther, F.A., Springer Verl. New York-Heidelberg-Berlin, 73, 49-86 (1980).
- (105) WEHTJE, G. et al.: Atrazine contamination of groundwater in the Platte Valley of Nebraska from non-point sources. The Science of Total Environ. 21, 47-51 (1981).
- (106) BEYER, H.: Lehrbuch der organischen Chemie. S. Hinzl Verl. Stuttgart, 878 ff. (1973).
- (107) LOOS, M.A.: Phenoxyalkanoic acids, in degradation of herbicides. Ed. by Kearney, P.C. and Kaufmann, D.D., Dekker Inc. New York, 1-49 (1969).
- (108) HANSON, J.B., and SLIFE, F.W.: Role of RNA metabolism in the action of auxin-herbicides. Res. Rev. 25, 59-67 (1969).
- (109) BÖGER, P., and VETTER, H.: Herbicides in modern crop farming. In: Plant Research and Development, ed. by the Institute for Scientific Co-operation; Inst. f. Wissenschaftl. Zusammenarbeit, Tübingen, 8, 79-101 (1978).

- (110) MUIR, R.M. et al.: Growth regulation by organic compounds. *Plant. Phys.* 24, 359-366 (1949).
- (111) KLINGMAN, G.C., and AHLGREN, G.H.: Effects of 2,4-D on dry weight, reducing sugars, total sugars, polysaccharide, nitrogen, and allyl sulfide in Wild Garlic. *Bot. Gaz.* 113, 119-134 (1951).
- (112) SMITH, F.G.: The effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the respiration metabolism of bean stem tissue. *Plant Phys.* 23, 70-83 (1948).
- (113) LOUSTALOT, A., and MUZIK, T.J.: Effect of 2,4-D on apparent photosynthesis and developmental morphology of Velvet Bean. *Bot. Gaz.* 114, 56-66 (1952).
- (114) SMITH, F.G.: Changes in food reserves and respiratory capacity of bindweed tissues accompanying herbicidal action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Plant Phys.* 22, 58-65 (1947).
- (115) FREELAND, R.O.: Effects of 2,4-D and other growth substances on photosynthesis and respiration in *Anarchis*. *Bot. Gaz.* 3, 319-324 (1950).
- (116) MORELAND, D.E., and HILL, K.L.: Interference of herbicides with the Hill reaction of isolated chloroplasts. *Weeds* 10, 229-236 (1962).
- (117) STADNYK, L., and CAMPBELL, A.S.: Pesticide effect on growth and ¹⁴C assimilation in a freshwater algae. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.* 6 (1), 1-8 (1971).
- (118) HUANG, J., and GLOYNA, E.F.: Effect of organic compounds on photosynthetic oxygenation - 1. Chlorophyll destruction and suppression of photosynthetic oxygen production. *Wat. Res.* 2, 347-366 (1968).
- (119) ALY, O.M., and FAUST, S.D.: Studies on the fate of 2,4-D and ester derivatives in natural surface waters. *Food Chem.* 12 (6), 541-546 (1964).
- (120) GEBEFÜGI, I., and PARLAR, H.: Zur Risikoabschätzung von Pentachlorphenol in der Umwelt. Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung München, Ber. Ö-414 (1978).
- (121) BUIKEMA, A.L.: Phenolics in aquatic ecosystems: a selected review of recent literature. *Marine Environ. Res.* 2, 87-181 (1979).
- (122) SLATER, E.C.: Uncouplers and inhibitors of oxidative phosphorylation. In: *Metabolic Inhibitors*, ed. by Hochster, R.M. and Quastel, J.H., Academic Press New York, 2, 503-516 (1963).
- (123) BLACKMANN, G.E. et al.: The physiological activity of substituted phenols: I. Relationships between chemical structure and physiological activity. *Arch. Biochim. Biophys.* 54 (1), 45-54 (1955).
- (124) BENECKE, G., and ZULLEI, N.: Ein Beitrag zur toxikologischen Beurteilung von Desinfektionsmitteln mit Hilfe trichaler Blaualgen. *Veröffentl. d. Inst. f. Wasserforsch. u. d. hydrol. Abt. Dortmund* 11, 25-28 (1977).

- (125) SPITZAUER, P.: Landschaftsökologische Modelluntersuchungen im Raum Ingolstadt. In: Bericht Kolloquium 1980, Inst. f. Ökol. Chemie, Gesellschaft f. Strahlen- u. Umweltforschung, Bericht Ö-599, 8-24 (1981).
- (126) PIERCE, R.H., and VICTOR, D.M.: The fate of pentachlorophenol in an aquatic ecosystem. In: Pentachlorophenol, ed. by Ranga Rao, K., Plenum Press New York, 41-52 (1978).
- (127) PIERCE, R.H. et al.: Pentachlorophenol distribution in a freshwater ecosystem. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 18 (2), 251-257 (1977).
- (128) ROUND, F.E.: Biologie der Algen. Georg Thieme Verl. Stuttgart, 2. Aufl., 215 ff. und 253 (1975).
- (129) Wir haben ein neues Glas gemacht. Informationsheft des Glaswerkes Wertheim, 6980 Wertheim, B.R.D. (1982).
- (130) DALELA, R.C. et al.: Influence of pH on the toxicity of phenol and its two derivatives pentachlorophenol and dinitrophenol to some fresh water teleosts. Acta hydrochim. hydrobiol. 8 (6), 623-629 (1980).

LEBENS LAUF

Angaben zur Person:

Ludwig Günter Peichl, geb. am 16.08.1952 in Neumarkt-St. Veit (Obb.).

Eltern: Harald und Anna Peichl, geb. Staudinger.

Verheiratet seit dem 22.04.1977 mit Brigitte Peichl, geb. Klement.

Geburt der Tochter Sabine am 05.06.1980.

Geburt der Tochter Tanja am 20.04.1984.

Schulbildung:

Volksschule: 1958 - 1963

Gymnasium (math.-nat.wiss.): 1963 - 1972

Abitur: Juni 1972

Studium:

Beginn: WS 1972, Biologie und Chemie für das Höhere Lehramt an der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Biologie-Vordiplom: SS 1975

Biologie-Diplom: 21.05.1979

Dissertation (praktische Arbeiten): 01.05.1979 - 30.04.1982, an der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH, Institut für Ökologische Chemie, Neuherberg b. München.

Beruf:

Seit 01.05.1982 Wissenschaftlicher Mitarbeiter bei der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH, Institut für Ökologische Chemie. Aufgabengebiet: Ökotoxikologische Untersuchungen an aquatischen Systemen.

